

**ELINTARVIKETEOLLISUUDEN TYÖASUHYGIENIA
KÄYTTÖÖNOTTOVAIHEESSA**

Pertti Moilanen

Pro gradu -tutkielma

Itä-Suomen yliopisto

Biotiede

Ravitsemus- ja elintarvikebiotekniikka

Syyskuu 2012

Työasuhuolto on eräs merkittävimmistä elintarvikealan tukiprosesseista. Työasut estävät haittamikrobien siirtymistä työskentelevistä ihmisistä elintarvikkeisiin ja suojaavat työntekijää elintarvikkeiden käsittelyyn liittyviltä biologisilta ja kemiallisilta riskitekijöiltä. Työasuja koskeva lainsäädäntö painottuu työasujen käyttöön ja pestyille asuille ei ole hygienialainsäädäntöä. Suomen elintarvikelainsäädäntö määrittelee, millaisia asuja työntekijöiden tulee käyttää ja kuinka usein niitä tulee vaihtaa.

Tutkielman kirjallisuussiosiossa käsitellään vesipesulaprosessin toimintaa mikrobiologisesta näkökulmasta ja pestyjen tekstiilien kansainvälistä lainsäädäntöä sekä laatustandardeja. Kirjallisuussiosiosista pesulateollisuus saa perustietotaitoja elintarvikealan työasujen mikrobiologista laatutarpeista.

Tutkimusosiosiossa työasujen mikrobeja tutkittiin kahdella tavalla: *Salmonella*- ja *Listeria*-bakteerit rikastusviljelmin, kontaktimaljoin määritettiin aerobisesti kasvavat hiivat ja homeet, kokonaisbakteerit, *Staphylococcus*- ja *Bacillus*-bakteerit sekä gramnegatiiviset sauvabakteerit. Pesäkkeet laskettiin ja luokiteltiin morfologian perusteella. Jokaisesta pesäketyypistä tehtiin puhdasviljelmä. Bakteerit gramvärjättiin ja katalaasi-, oksidaasi- ja hemolyysiaktiivisuus testattiin. Homeet tutkittiin rihmaston ja konidioiden kasvumuodon perusteella ja hiivat tunnistettiin gramvärjäyksellä ja katalaasitestauksella. Mukana olevista A-, B- ja C-laitoksista A- ja C- laitos halusivat selvittää likaisten vaatteiden mikrobimäärät ja koostumuksen.

Vaatteiden mikrobiologinen laatu täytti RAL-GZ 992/3-laadunvarmistusstandardin raja-arvot 50 pmy/dm² A-pesun poikkeamia lukuun ottamatta. A-laitoksen likaiset vaatteet olivat C-laitosta likaisempia. Likaisista ja puhtaista työvaatteista otetuilla kontaktimaljoilla kasvoi lähinnä gram- ja katalaasipositiivisia kokkeja, mutta oksidaasiaktiivisuus vaihteli. Maljoilla kasvoi myös ovaalin ja sauvan mallisia grampositiivisia bakteereja sekä gramnegatiivisia sauvabakteereja. Enterobakteereita esiintyi ainoastaan likaisissa asuissa. *Salmonella*-bakteeria ei esiintynyt yhdessäkään asussa. Ainoastaan C-laitoksen värillisestä asusta löytyi *Listeria welshmeri* -bakteeria. Likaisissa asuissa oli samantyyppinen mikrobikoostumus kuin puhtaissa vaateissa, mutta siellä oli myös vähäisissä määrin muita bakteereja.

Listeria-bakteerin esiintyminen yhdessä näytteessä tarkoittaa sitä, että avainpatogeenilajit tulisi tutkia elintarvikealoittain. Myös anaerobisien bakteerilajien määrä ja *Clostridium*-bakteerien esiintyminen tulisi tutkia. Pesulaprosesseja tulisi tutkia enemmän elintarvikehygienian näkökohdista.

Työasuista tehtiin kerran humaanilla kohdunkaulansyöpä (HeLa-229) -soluilla Highest Tolerated Dose (HTD) -sytotoksisuuskoe. Kankaat olivat B-tehtaan valkeaa takkia lukuun ottamatta sytotoksisia. Sytotoksisuustesti osoittautui herkäksi ja sillä voitaisiin tutkia pyykin pesukemikaaliäämiä tarkasti. Tuloksia voitaisiin käyttää pesujen neutraloinnin ja huuhtelujen optimoinnissa sekä tekstiilien käyttöturvallisuuden parantamisessa.

Key words Work wear, microbes, cytotoxicity, laundry, foodstuff industry

Textile service of the laundries is an important support process in food industry. Work clothes protect foodstuffs against the harmful micro-organisms of humans. They also protect the employers against chemical and biological hazards of the food manufacturing. Hygiene of the work wear has a very significant role in food safety in the food processes, where employees are in contact with manufactured products. Finnish Food Legislation defines what kind and how employees should use work wear and how often they must be changed. In Finland there is no hygiene legislation for washed and clean textiles.

Part of the literature work consists of studying microbiological aspects of water laundry process and microbiology of the textiles. In addition, work consists of quality management systems and international legislation on the laundry textiles. This work gives information about the microbiological quality requirements of the food industry for the laundries.

In experimental work, microbes were examined in two ways: *Salmonella* and *Listeria* bacteria were cultivated by enrichments methods and other microbes such as total bacteria, Gram-negative rods, yeasts and molds, *Staphylococcus* and *Bacillus* bacteria with contact plate method. The colonies were counted and classified according to their morphology. A representative of each type of the colony was isolated and grown as pure culture. The bacteria were Gram stained and tested for catalase, oxidase and hemolysis. Molds were examined by hyphae and conidiophore type. Yeasts were catalase tested and Gram stained. The industrial partners were called A, B and C facilities. Microbiology of the dirty work wears were examined for A and C facilities.

Hygienic quality of the work wears, with the exception of some samples of A-facility, reached $<50 \text{ cfu/dm}^2$ of the RAL-GZ 992/3 quality assurance standard. The dirty work wears of A-facility were dirtier than in C facility. Samples from the clean and dirty textiles grew Gram and catalase positive cocci bacteria, but oxidase activity was variable. On the contact plates there also grew ovals and rod shaped grampositive bacteria and some gramnegative rod shaped bacteria. *Enterobacteriaceae* were observed only in dirty work wears. *Salmonella* was not found in any work wears. *Listeria welshmeri* was observed only from C facility in colored trousers. The dirty work wears had a similar microbiological compound as clean ones, but there were also some different types of bacteria.

Laundry processes were not studied from the aspect of the food hygiene. Positive *Listeria* result means that the most important pathogenic or spoilage bacteria in the food industry should be monitored by each industrial sector. Also anaerobic bacteria, including *Clostridia*, should be studied. Laundry processes should be studied more from the aspects of food hygiene.

Cytotoxicity of the work wears was studied once against cervical cancer (HeLa) cell line using Highest Tolerated Dose (HTD) method. All textiles were cytotoxic except a white jacket of the A facility. Cytotoxicity method was especially sensitive for laundry detergent residues. The results could be exploited for rinsing and neutralization cycles in the washing programs.

SISÄLLYSLUETTELO

1. JOHDANTO	6
KIRJALLISUUSKATSAUS	8
2 ELINTARVIKETEOLLISUUDEN TYÖASUHUOLTO	8
2.1 Elintarviketeollisuuden työasuhankinta	8
2.1.1 Maitoalan työasujen huoltoprosessi	9
2.1.2 Liha-alan ja elintarvikejalostuslaitoksien työasuhuoltoprosessit	11
3.1 Pesuloiden hygienian hallinta	12
3.2 Likaisen pyykin käsittelyhygienian hallinta	13
3.3 Pesuprosessin hygienianhallinta	13
3.4 Jälkikäsittelyt	15
3.5 Pesula-alan laatustandardit ja etujärjestöt	16
4.1 Elintarviketeollisuuden työasu- ja tuotantohygienian ominaispiirteet	19
4.3 Pyykin mikrobit ja mikrobiologinen puhdistuminen	21
4.3.1 Pyykin mikrobien tutkiminen	23
4.3.2 Rikastusmenetelmät	26
5.1 Tekstiilien toksikologia	27
5.2 Pesukemikaalien käyttöturvallisuus ja toksikologia	28
5.2.1 Pestyjen tekstiilien pesuainejäämien tutkiminen	29
6 YHTEENVETO	31
KOKEELLINEN OSUUS	32
7 TUTKIMUKSEN TAVOITTEET	32
8 TUTKIMUSAINEISTO JA MENETELMÄT	33
8.1 Työasujen mikrobien määrittäminen	33
8.2 <i>Listeria</i> - ja <i>Salmonella</i> -bakteerien tunnistaminen rikastusmenetelmällä	33
8.2.1 Näytteet ja niiden alkuperä	33
8.3 Mikrobien tunnistus ja laskeminen kontaktimaljoilta	35
8.3.1 Pesuprosessin teho	37
8.4 Sytotoksisuus	37
8.4.1 Solulinja	37
8.4.3 Kuoppalevyjen valmistus ja solujen altistus	39
9 TULOKSET	42
9.1 <i>Salmonella</i> ja <i>Listeria</i>	42
9.2 Mikrobilajit ja niiden määrät kontaktimaljoilta	42

9.2.1 Mikrobimäärät.....	42
9.2.2 Puhtaiden asujen bakteerien luokittelu	44
9.2.3 Likaisten asujen bakteerien luokittelu	46
9.2.4 Vaatteiden puhdistuminen	47
9.3 Sytotoksisuus	49
10 TULOSTEN TARKASTELU	50
11 POHDINTA.....	54
LÄHTEET	

1. JOHDANTO

Työasuhoito on eräs merkittävimmistä elintarviketeollisuuden tukiprosesseista. Työasuhoito tarpeet vaihtelevat asiakkaan mukaan. Pisimmälle vietyä se tarkoittaa asiakkaan hankkimaa kokonaisvaltaista työasupalvelua, jossa pesula omistaa työasut ja hoitaa ne asiakkaalle sovittuun pisteeseen (Fijan ym. 2008). Palveluun kuuluvat vaatteiden pesu, korjaus ja työasuhankinta. Työasutoimintaketjun laatutekijöihin kuuluvat muun muassa palvelun hinta, visuaalinen puhtaus, raikas tuoksu, tekstiilien eheys, pesuainejäämättömyys, toiminnan ympäristöystävällisyys, toimitusvarmuus ja korkea mikrobiologinen hygienia (Fijan ym. 2005; Fijan ym. 2008).

Työ- ja suoja-asujen tehtävä on estää haittamikrobien siirtymistä työskentelevistä ihmisistä elintarvikkeisiin, ja ne suojaavat muun muassa lihateollisuudessa työntekijöitä liha- ja luumateriaalissa olevilta mikrobeilta ja prioneilta sekä puhdistuksessa käytettäviltä pesukemikaaleilta (Fijan ym. 2006a). Fijan (2008) tutkimusryhmineen piti työasuja elintarviketeollisuuden kriittisenä valvontapisteenä (Critical Control Point, CCP). Tosiasiassa asia ei ole näin yksinkertainen, koska elintarviketokprosessit poikkeavat toisistaan.

Pyykkiä voidaan pestä kemiallisella liuotinpesu-, kemiallisella vesipesu- tai vesipesutokprosessilla. Vesipesulassa pyykin lopulliseen mikrobiologiaan vaikuttaa eniten pesutokprosessin pesu- ja desinfektio (Fijan ym. 2007). Pesukemikaaleissa on voimakkaita emäksiä ja hapettimia. Tekstiilien turvallisuus arvioidaan seuraamalla huuhteluveden kemikaalipitoisuutta (Tekstiilihoito 2010). Kuivaus parantaa edelleen tekstiilien hygieniaa, mutta tämän jälkeen hygieniaa heikentää pesulan ilmaperäinen mikrobilaskeuma, työntekijän käsien ja kuljetuslaatikoiden mikrobit, ja kuljetuksen sekä elintarviketehtaan ilmaperäinen mikrobilaskeuma (Woodland ym. 2010).

Tutkimukseen osallistuivat itäsuomalaiset maito- ja liha-alan laitokset sekä elintarviketalostuslaitos. Maitoalan laitos käytti paikalliselta pesulalta ostettua vuokratyöasupalvelua, liha-alan laitos huollatti asunsa paikallisessa pienpesulassa ja elintarviketalostuslaitos pesi asunsa itse. Kontaktinäytteet haettiin maitoalan juustolan työvaatelokeroissa olevista asuista, elintarviketalostuslaitoksen näytteet otettiin pesutilassa olevista asuista ja liha-alan laitokselta työasuvarastosta. Tutkimuksen työasut huolletaan vesipesutokprosessilla. Yhteistyökumppaneita kutsutaan lyhenteillä A-, B- ja C-laitos.

Yrityksistä haluttiin tietää mahdollisimman tarkasti pesuprosessin kulku ja mahdolliset pyykin kontaminaatiolähteet. Tekstiilien mikrobiologian ymmärtäminen helpottaa työasujen kautta tulevien mikrobiologisten vaarojen arvioinnissa. *Listeria*- ja *Salmonella*-bakteerin ja homeitiöiden pesukestävyys haluttiin tietää joko kirjallisuuden tai tutkimuksen kautta. A- ja C-laitos halusivat tutkituttaa likaisten pyykkien mikrobitason ja mikrobiologisen koostumuksen. Lisäksi haluttiin selvittää, mitä hyötyä saavutetaan teollisessa pyykinpesussa verrattuna omaan pesuun ja onko pesuloiden mikrobiologinen laatu parempi. Yritykset halusivat myös tietoa kansainvälisistä pesula-alan hygieniastandardeista, jotka voisivat jollakin tavalla tulevaisuudessa koskettaa elintarvikevientiyritysten toimintaa. Tavoitteena oli myös avata pesulaprosesseja, jotta elintarvikealan toimijoiden arvostus korkeatasoista työasupalvelua kohtaan paranisi. Elintarvikemikrobiologian tuntemus voi olla myös pesuloille kilpailuvaltti, kun omien tuotteiden mikrobiologinen laatu ja asiakkaiden tarpeet tunnetaan paremmin.

Pro gradu -työn tavoitteena oli tutkia elintarviketeollisuuden työasuhygieniää käyttöönottovaiheessa. Työasuhygieniatutkimus jakautui kerran vaaleista ja värillisistä asuista tehtyyn pilotointiin ja kolme kertaa tehtyyn monitorointiin. Pilotoinnissa määritettiin värillisistä ja valkoisista työasuista kontaktimaljanäyttein kokonaisbakteerit ja hiivat sekä homeet. Tämän lisäksi tutkittiin elintarviketeollisuuden haittamikrobeja ja patogeeneja, joita olivat *Bacillus spp.*-bakteerit, grampositiiviset kokit, eritoten *Staphylococcus aureus* ja kolimuotoiset gramnegatiiviset sauvabakteerit. *Listeria* ja *Salmonella* tutkittiin kvalitatiivisella rikastusmenetelmällä.

Kontaktimaljoilla eristetyt bakteerit laskettiin ja ryhmiteltiin pesäkemorfologian (muodon) perusteella. Jokaisen pesäketyypin yhdestä pesäkkeestä tehtiin puhdasviljelmä, josta tehtiin gramvärjäys sekä katalaasi-, oksidaasi- ja hemolyysitestit. Kahdesta laitoksesta otettiin myös likaisista työasuista kontaktimaljanäytteet kolmena rinnakkaisnäytteenä. Ylikasvaneista maljoista pesäkesuhteet arvioitiin silmämääräisesti ja jokaisesta pesäketyypistä tehtiin suora gramvärjäys.

Tarkoituksena oli myös tutkia pestyjen työasujen kankaiden sytotoksisuutta kohdunkaulansyöpä (HeLa) -soluilla. Sytotoksisuus voi johtua pesukemikaalijäämistä tai niiden ja lian sekä kuidun kanssa mahdollisesti muodostuneista haitallisista yhdisteistä.

KIRJALLISUUSKATSAUS

2 ELINTARVIKETEOLLISUUDEN TYÖASUHUOLTO

2.1 Elintarviketeollisuuden työasuhankinta

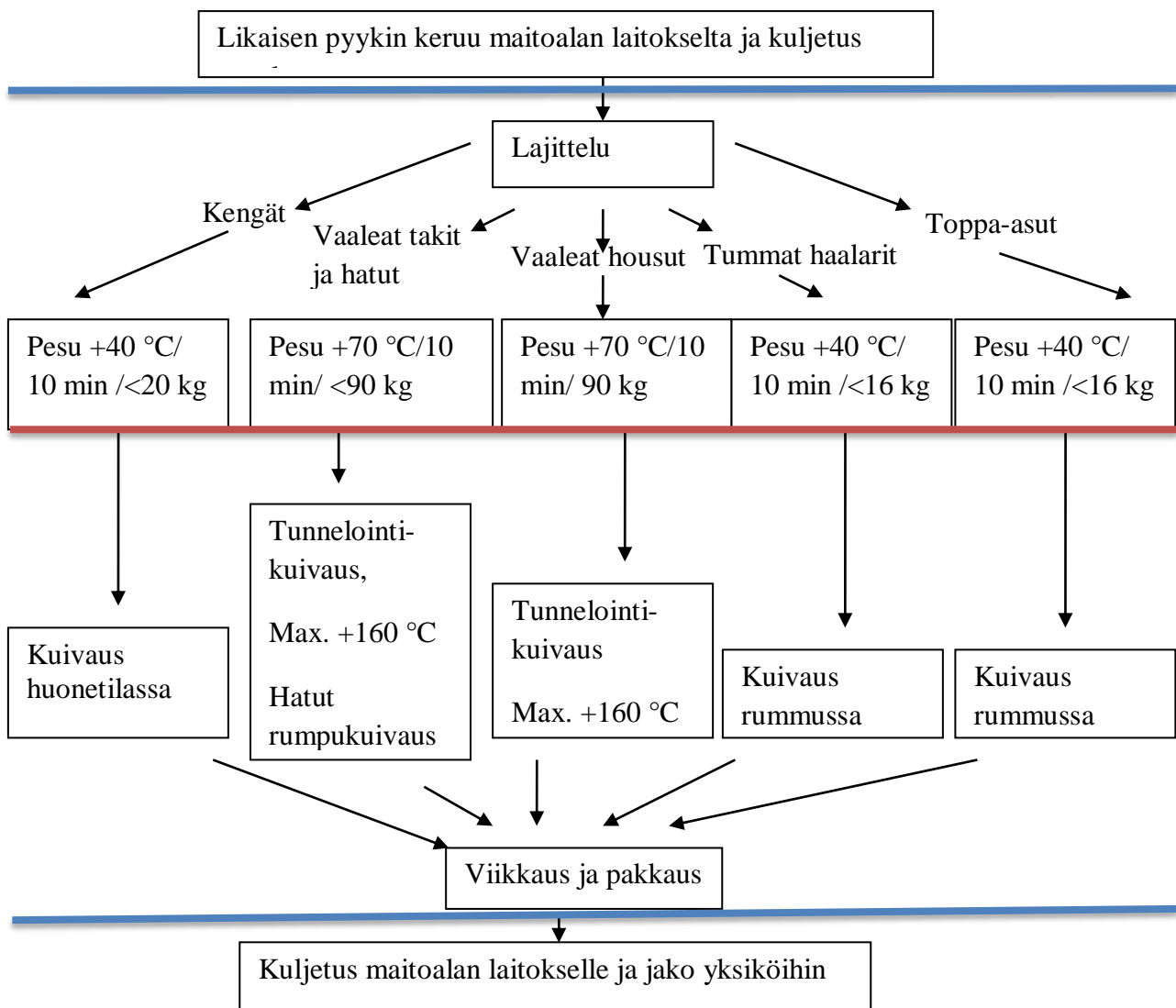
Elintarviketeollisuuden kiinnostus työasuhuoltoa kohtaan vaihtelee. Suuret yritykset käyttävät pääasiassa pesuloiden palveluita, mutta pienet yritykset huoltavat pyykkinsä itse. Mitä enemmän työasuihin on kiinnitetty huomiota, sitä tarkemmin palvelusopimuksen sisältö halutaan määritellä.

Elintarviketeollisuudessa on käynnissä voimakkaita muutostrendejä: säilyvyyttä parantavia lisäaineita ei saisi käyttää elintarvikkeissa ja suolaa pyritään vähentämään (Haapala 2012). Elintarviketeollisuudessa valmistetaan jalostettuja raakavalmisteita ja esimerkiksi kalan fileointi tai kasvien myynti valmiiksi viipaloituna lisää pilaantumis- ja tuotteen aiheuttamaa ruokamyrkytysriskiä (Evira 2012b; Evira 2011). Suomalainen elintarviketeollisuus toimii globaalissa ympäristössä ja elintarvikkeita viedään ympäri maailmaa. Elintarvikkeiden jalostusketjut ovat pidentyneet aikojen saatossa (Heikinheimo ym. 2010). Esimerkiksi Snellman Oy (2012) vie sianlihaa Venäjälle, Japaniin, Uusi-Seelantiin, Etelä-Koreaan, Yhdysvaltoihin, Kanadaan ja EU-maihin. Ulkomaisia asiakkaita kiinnostaa työasuhuolto (Kuittinen 2011). Valio Oy on tiukentanut tekstiilihuolto-prosessin hygieniavaatimuksia Venäjän vientivaatimusten vuoksi (Ahjoniemi 2011; Rasinmäki 2012). Nämä tekijät aiheuttavat paineita tuotannon hygienian parantamiseen. Elintarviketeollisuudessa ollaan siirtymässä hyödyntämään puhdistatekniikkaa, joka vaikuttaa myös työasuhygieniaan (Ahvenainen-Rantala 2004; Moilanen 2002). Työasuhygienian merkitys elintarviketeollisuudessa on kasvamassa.

Elintarviketeollisuudella on todennäköisesti pesulateollisuutta suuremmat kulujenhallintapaineet ja elintarvikealalla keskimääräinen sijoitetun pääoman tuotto on vaihdellut 2–4 % välillä (Karppinen 2009). Suomen suurimmat elintarvikealan yritykset hoitavat ostotoimintojaan Nordic Source (2012) -osuuskunnan kautta, jonka ideana on saada kustannussäästöjä ja löytää parhaat vaihtoehtoiset ratkaisut ja hankintakonseptit. Osuuskuntaan kuuluvat Atria Oy, Fazer-konserni, Lassila&Tikanoja, Olvi Oyj, Onninen Konserni, Saarioinen Oy, Tamro Suomi Oy, Valio Oy ja Paulig Group Oy. Myös työasujen ostohankinnat tapahtuvat tätä kautta (Noventia Oy 2001). Laatukysymykset neuvotellaan kahden kesken jäsenyritysten ja kilpailutettavien pesuloiden välillä.

2.1.1 Maitoalan työasujen huoltoprosessi

Maitoalan laitoksen työasut ovat pääsääntöisesti valkoisia, mutta huollon ja varaston henkilöstöllä on jonkin verran värillisiä talvivarusteita ja työasuja. Kyseinen maitoalan yritys on Suomen elintarvikesektorilla ainoita yrityksiä, joilla on työasuhuollolle tarkat kriteerit, osittain Venäjän vientivaatimusten vuoksi (Ahjoniemi 2011; Rasinmäki 2012). Työasut on pestävä omana eränään eikä huuhteluvedestä saa löytyä bakteereita Total Plate Count (TPC)-hygicultilla. Myös jälkikäsittely on tarkasti määrättyä. Pyykin kuljettajat eivät saa liikkua tuotantotiloissa ja työasuja viikattaessa on käytettävä suojakäsineitä. Pesulan ulko-ovet on pidettävä kiinni. Pesulalla on 2011 sertifioitu EN SFS 14065 -mikrobiologisen laadun hallintajärjestelmä. Maitoalan yrityksen ostama työasuprosessi on esitetty vuokaaviona Kuvassa 1.



Kuva 1. Vuokaavio maitoalan tuotantoyksikön ostamasta työasujen huoltoprosessista. Pesulan seinien sisällä tapahtuva toiminta on rajattu sinisillä viivoilla. Vastaanottotila, jossa käsitellään likapyykkiä, on rajattu puhtaasta tilasta punaisella viivalla.

Pesulaan tullut pyykki lajitellaan, ja hihat ja lahkeet oiotaan, jotta vaate puhdistuisi paremmin pesussa ja jälkikäsitteily olisi joutuisampaa. Taskut tyhjennetään, koska erityisesti taskuihin jäävät mustekynät voivat tahrata koko pesuerän.

Lajitellut työasut pestään Christeys Oy:n (Palosaari 2010) pesukemikaaleilla. Valkoiset työasut pestään työasuille varatulla kaksilokeroisella pesukapasiteetiltaan 90 kg olevalla Lavatek 332 LX -yksikköpesukoneella. Koneessa on luukut vastaanottotilassa koneen täyttöä varten ja puhtaalla puolella koneen tyhjennystä varten. Yhtä pyykkikiloa kohden käytetään 3 litraa vettä ja 10 g pesukemikaalia. Esipesuun lisätään Select detergent Blue -alkalista pesutehostajaa ja Power Classic -pääpesuainetta, minkä jälkeen pääpesuvaiheessa Mulan Classic -tensiditiivistettä (Christeys Nordic Oy Ab 2010). Pääpesuvaiheessa pyykki lämpödesinfioidaan 10 minuuttia +70 °C:ssa. Ennen huuhtelua valkopyykki käsitellään hypokloriittia sisältävällä Lunosept concentrate -tahrannoistoaineella. Huuhteluvaiheessa pyykki neutraloidaan Neutrapur -muurahaishapolla ja aivan viimeisenä lisätään 2 g Bisoft Duo Blue -viimeistelyainetta pyykkikiloa kohden (Vartiainen 2012).

Tummat työasut eivät ole korkean hygienian pyykkiä ja niitä on niin vähän, että erät pestään pienyksikkökoneilla (Rasinmäki 2012). Kirjopyykille ei käytetä tahrannoistoainetta, mutta pyykki on mahdollista desinfioida peretikkahappopohjaisilla desinfektioaineilla. Tumma pyykki kuivataan rumpukuivureilla. Kuivauslämpötila riippuu tekstiilin materiaalista, esimerkiksi toppa- ja keino- kuitumateriaaleilla käytetään alhaisempaa kuivauslämpötilaa kuin puuvillahaalareilla. Kuivauksen jälkeen pyykki viikataan ja pakataan.

Vaaleat työasut kuivataan ja silitetään pesupäivänä tunneliviimeistelijällä Kannegiesser XTM-3-Damf Turbolla (Kannegiesser 2012; Nevalainen 2012). Laitteessa on 10–15 erilaista säätöparametria, joista tärkeimmät ovat linjan nopeus, lämpötila, puhalluspaine, teho ja syötön välimatka. Työasut syötetään peräkkäin ilman tyhjiä välejä. Laitteen lämmitysteho on 550 kW ja siinä on kolme lämpömoduulia, joissa ensimmäisessä puhalluslämpötila on +160 °C, toisessa +155 °C ja kolmas on jäähdytysmoduuli. Työasut menevät tunnelin läpi henkarissa kattovarastoon, josta ne pakataan suoraan kuljetuslaatikoihin. Työasut eivät ole kosketuksissa hyllyihin tai pyykkialtaisiin, mikä vähentää niiden jälkikontaminaatiota (Fijan ym. 2008).

Kuljetuksen aikana työasurullakot suojataan rullakkohupulla ja ne ovat muovipussissa suojassa kuljetuksen mikrobeilta. Elintarviketehtaalla työasut joutuvat kosketuksiin tehtaan mikrobien kanssa, kun työasut jaetaan ja puretaan juustolaan, tuorejuustolaan ja laktoosittoman maidon yksikköön.

2.1.2 Liha-alan ja elintarvikejalostuslaitoksien työasuhuoltoprosessit

Liha-alan laitos huoltaa omistamansa työasut paikallisessa yksiosaisessa pesulassa (Määttä 2011). Pyykit pestään Christeys Oy:n pesukemikaaleilla (Leskinen 2012). Muutoin kemikaalit ovat vastaavia kuin maitoalan työasuhuoltoprosessissa, mutta pyykin desinfektio tehdään kloori-isosyanuraatti-pohjaisella kiinteällä kemikaalilla (Vartiainen 2012). Kemikaalivalmisteesta päätellen pesula käyttää +60 °C matalalämpöpesua. Tehtaan likaisimmilla hygienialueilla käytetään värillisiä työasuja. Korkeamman hygienian osastoilla on valkoiset työasut. Työasuhuoltoprosessiin tulevat pyykkisäkit lastataan autoista puolirullakoihin. Pyykki lajitellaan pesuihin värin mukaan, kuivataan rummussa, viikataan ja pakataan laatikoihin. Pesula noudattaa Risk Analysis Biocontamination Control (RABC) -protokollaa, mutta heillä ei ole EN SFS 14065 -sertifikaattia.

Elintarvikejalostuslaitoksen tekstiilit huolletaan itse (Kuittinen 2011). Kirjopyykki pestään +60 °C:n ohjelmalla ja valkopyykki +85 °C:ssa. Pesussa käytetään JohnsonDiverseycleverin Clax multi free -pääpesuainetta 100 g pyykkikiloa ja kolmea vesilitraa kohden. Entsyymi- ja tensidipohjaista Clax Spirit -pesutehostajaa käytetään 20–30 ml pyykkikiloa kohden (JohnsonDiversey 2003). Pääosa työasuista on valkoisia ja niitä käytetään erityisesti raaka-aineen käsittelypisteissä eli likaisimmissa töissä. Työasuhygieniää ajatellen tämä on järkevää, koska valkeat työasut kestävät värillisiä asuja paremmin kuumapesua ja niissä voidaan käyttää voimakkaampaa kemiallista desinfektiota.

3 TEKSTIILIHUOLTOPROSESSIEN MIKROBIOLOGINEN HALLINTA

3.1 Pesuloiden hygienian hallinta

Työasujen mukana on mahdollista kulkeutua pesuloista elintarviketeollisuuteen patogeenejä ja muita haittamikrobeja (Fijan ym. 2008). Pesulaprosessit poikkeavat toisistaan yritysten koon, tavoitellun pesulaadun, pestävän pyykin laadun ja pesulatyypin mukaan. Tärkein mikrobiologiaan vaikuttava seikka on laitosrakenne. Väliseinättömien laitosten hygieniaa seurataan 2 kk välein Hygicult Total Plate Count (TPC)-testillä likapyykin käsittelypisteen läheltä puhtaasta pyykistä (Tekstiilihuolto 2010). Puhtaassa pyykissä saa olla 20 pmy/laattapuolisko eli 200 pesäkettä muodostavaa yksikköä yhdellä neliödesimetrillä, (pmy/dm²). Jaetuissa pesuloissa tilojen ilmanpaine-eroa tulisi olla mitattavissa. Paine-ero estää likaisen pölyn ja bakteerien leviämisen puhtaalle puolelle.

Pesuloiden hygienialaatuja järjestelmät ja -ohjeistukset pohjautuvat terveydenhuolto- ja pesula-alan yhteisistä tutkimuksista saatuun tietämykseen. Hyvä tekstiilihygienia perustuu hyvään pesula-hygeniaan, joka koostuu kahdesta keskeisestä tekijästä: toimivasta pesuprosessista ja tekstiilien kontaminoitumisen estämisestä pesun jälkeen (Tekstiilihuolto 2010). Pesuprosessin validointi bioindikaattoritestillä ei välttämättä takaa hyvää tekstiilihygieniaa ilman hyvää laitos- ja työhygieniaa (Fijan ym. 2006a).

Hyvän hygienian ylläpito on tärkeää, koska pesulateollisuus huolehtii monien erityisryhmien, kuten pienten lasten, vanhusten ja vakavasti sairaiden potilaiden pyykistä. Näiden erityisryhmien immuniteetti on alempi kuin terveillä täysikasvuuisilla ihmisillä (Fijan ym. 2007). Elintarviketeollisuudessa erityisesti pienten lasten erityistarpeet on huomioitu muun muassa Euroopan komission direktiivillä (2006/125/EY) ja monilla muilla säännöksillä.

Pyykinkäsittelyprosessissa tulee pyrkiä suoraviivaiseen prosessointiin, esimerkiksi puhtaille ja likaisille tekstiileille pitäisi olla omat käsittelysektorinsa pesulassa, vaikka pesulaa ei olisi jaettu (Tekstiilihuolto 2010). Mahdollisuuksien mukaan likaisten pyykkien käsittelyyn ja koneiden täyttöön pitäisi olla oma työntekijä. Toinen työntekijä tyhjentää koneet ja käsittelee puhtaat pyykkit. Siivous tulisi tehdä pesuajan ulkopuolella ja siivoussuunnan tuli olla puhtaista tiloista likaisiin tiloihin. Mikäli tilat on jaettu, likaisille ja puhtaille tiloille tulisi olla omat siivousvälineet.

3.2 Likaisen pyykin käsittelyhygienian hallinta

Likapyykin käsittelyyn liittyvät mikrobiologiset vaarat vaihtelevat matalasta kohtalaiseen (Tekstiilihuoltoliitto 2010). Kosteaa ja likainen pyykki on hyvä kasvualusta mikrobeille ja mikäli likapyykkiä ei kyetä heti lajittelemaan, niin sitä pitäisi säilyttää hyvin ilmastoiduissa ja jäädytetyissä tiloissa. (Barrier ym.1994; Tekstiilihuolto 2010). Mikrobeja voi siirtyä ilmateitse likaisen pölyn mukana ja pyykin käsittelystä johtuvasta ristikontaminaatiosta.

Likaisen pyykin purkuun ja lajitteluun liittyvät vaarat ovat työsuojelullisia, kuten tartuntavaarariski muun muassa pyykin mukana tulevasta neuloista (Tekstiilihuolto 2010). Likaisen pyykin käsittelyssä hyvä suojaus on oleellista. Vastaanottopuolen pesulatyöntekijöiden tiedetään sairastuneen syyhyyn, sieniperäiseen infektiin, suolistoperäisten virusten aiheuttamaan vatsatautiin, *Salmonella hadar* -bakteeriin aiheuttamaan salmonelloosiin sekä *Coxiella*-bakteeri-infektiin (Oliphant ym. 1949; Thomas ym. 1987; Shah ym. 1988; Gellert ym. 1990; Standaert ym. 1994; Borg & Portelli 1999). Borg ja Portelli (1999) osoittivat, että 54,5 % vastaanottopuolen pesulatyöntekijöiltä löytyi hepatiitti A:n vasta-aineita, joka on huomattavasti enemmän kuin sairaanhoitajilla (13,5 %).

3.3 Pesuprosessin hygienianhallinta

Pyykinpesuprosessi on hyvin samankaltainen kuin elintarviketeollisuuden pesuprosessit (Kivimäki 2000; Iltasola 2010). Ne ovat kemotermeisiä prosesseja ja pesuteho riippuu mekaanisesta, kemiallisesta ja lämpöenergiasta sekä pesuajasta (Iltasola 2010, Hastingin 2008 mukaan). Veden kovuutta aiheuttavat ionit ja rautapitoisuus sitovat pinta-aktiivista saippuaa, jolloin veden tunkeutuvuus tekstiilikuituihin heikkenee ja pesutulos huononee (Mäki ym. 2005; Teknokemian yhdistys 2006). Likapyykin orgaaniset epäpuhtaudet kuluttavat myös tahrannoistoaikaa desinfiointi- ja valkaisu-tehoa (Harrison ym. 1981). Samat metalli-ionit aiheuttavat myös saostumien muodostumista, mikä tehostaa biofilmin muodostusta laitteisiin.

Pyykinpesuprosesseja on kahdentyyppisiä: kemialliseen desinfektioon perustuva +50–60 °C tapahtuva matalalämpöpesu ja +70 °C:ssa ja vähintään 10 minuutin ajan kestävä lämpödesinfektioon perustuva pesuprosessi (Christeys. 2012).

Pyykinpesuprosessi sisältää esipesun, pääpesun sekä desinfiointi-, huuhtelu- ja neutralointivaiheen (Nicholson 1970). Suurin osa mikrobeista poistuu esipesussa, ja olennaista siinä on riittävä veden vaihto ennen pääpesua (Fijan ym. 2007). Pääpesun desinfiointivaiheen merkitys korostuu, mikäli pyykki on poikkeuksellisen likaista.

Pyykinpesussa on kaksi vaaratekijää: desinfektion epäonnistuminen on ”Erittäin suuri vaara” ja pyykin uudelleen kontaminoituminen ”Suuri vaara”. Tekstiilihuolto prosessin kaikki Control Point (CP) -pisteet liittyvät pesuprosessiin (Tekstiilihuolto 2010). Desinfektio voi epäonnistua, jos pääpesun lämpötila tai aika eivät ole riittäviä tai kemikaalien määrä on riittämätön. Pyykki voi kontaminoitua raakaveden mikrobien, vedenpehmentimen hartsimassan tai pesukoneen mikrobikasvustojen vuoksi. Huuhteluvedestä otetaan hygieniatutkimalla kerran kuukaudessa kokonaisbakteerit, joita saa olla ≤ 50 ja pehmennevyssä vedessä 10 pmy/laattapuolisko.

Suomalaisessa pesulateollisuudessa käytetään toimintamallia, jossa pesuainetoimittaja vastaa kone-yksiköiden pesuohjelmista (Leskinen 2012; Rasinmäki 2012). Ulkopuolinen erikoisasiantuntija säätää ohjelmaparametreit, joita ovat muun muassa pesukemikaalien määrä, pesulämpötila, aika, huuhtelusykli ja veden määrä. He hoitavat myös pesukoneiden vaativampia omavalvontatehtäviä ja audittoivat ulkopuolisena pesuprosessin. Järjestelmän hyötynä on, että Suomessa pesuprosessin laatu on pesulan koosta riippumatta samalla tasolla. Järjestelmän heikkoutena on hitaus ongelmatilanteissa.

Pyykinpesuprosessin validointi bioindikaattoritestillä kerran vuodessa tai prosessimuutosten jälkeen on oleellinen osa hygieniahallintaa (Tekstiilihuolto 2010). Suomessa bioindikaattoribakteeriksi on valittu lämpöä kestävä suolistobakteeri *Enterococcus faecalis*, joka kuvastaa hyvin Suomen pesuloiden hygieniatarpeita (Tekstiilihuolto 2010). Muita mahdollisia biokontrollibakteereita ovat *Enterococcus faecium* sekä *S. aureus* -bakteerit (Fijan ym 2007).

Tulevaisuudessa on mahdollista, että bioindikaattoritestejä on useampia. Hohenstein -instituutti julkaisi *E. coli* -bakteereissa lisääntyvän MS2-virukseen perustuvan virusindikaattoritestin vuonna 2009 (Gerhardts ym. 1998; Gerhards ym. 2009; Riedl 2009). MS2-bakteriofaagi kestää noroviruksen tavoin korkeita lämpötiloja ja kemikaalipitoisuuksia. Tutkijat osoittivat, että testillä voidaan osoittaa pesuprosessin ja kemikaalien virusidistä tehoa suuren mittakaavan pesuprosesseissa.

Sairaalatekstiilit tuovat oman haasteensa hygienian hallintaan. Sairaalabakteerien tai epidemioita aiheuttavien virusten saastuttamat pyykkit eristetään liukeneviin säkkeihin (Etelä-Pohjanmaan Sairaanhoidopiiri 2010). Elintarvikealalle mahdollisesti vaarallista eristyspyykkiä voisivat olla *Salmonella*-potilaiden ulosteista näkyvästi saastunut pyykki, joita käsiteltäisiin ammattitaidottomasti samoissa tiloissa kuin elintarviketeollisuuden työasuja. Eristyspyykki pestään eristyspyykkiohjelmalla +80 °C, jossa on voimakas hypokloriittidesinfektio.

Kautta teollisen pyykinpesun historian pesuprosesseja on pyritty kehittämään ekologis-ekonomiseen suuntaan vähentämällä kokonaispesuaikaa, pesuaineita, desinfiointikemikaaleja, vettä ja energiaa (Arnold ym. 1938; Christian ym. 1983; Fijan ym. 2007). Erityisesti veden lämmittäminen on kallista. Ekologis-ekonominen prosessin kehittäminen parantaa mikrobien selviytymismahdollisuuksia ja kykyä sopeutua ympäristöön (McMeekin ym. 2002; Fijan ym. 2006a). Pyykinpesu on prosessina samankaltainen kuin teollisen pyykinpesun alkuaikoina, mutta rumpujen materiaalit ovat muuttuneet puusta haponkestävään teräkseen. Pesuprosessien hygieniatutkimuksen käynnisti vuonna 1938 Arnold, joka osoitti, että pääpesuvaiheessa +71,1 °C 25 min pesu tappaa bakteerit itiöitä lukuun ottamatta. 1970-luvulla tutkittiin valkaisuaineita, joiden desinfioivan vaikutuksen ansiosta pesulämpötilaa kyettiin alentamaan (Nicholes 1970; Christian ym. 1983).

3.4 Jälkikäsittelyt

Jälkikäsittely tarkoittaa puhtaan pyykin käsittelyä, mikä sisältää kuivauksen, viikkauksen ja lähetyksen (Kivimäki 2000). Pesun jälkeen pyykki joutuu kosketuksiin pyykkialtaiden, työskentelypintojen, kuljetusastioiden ja pesulailman kanssa (Fijan ym. 2008; Tekstiilihuolto 2010; Woodland ym. 2010). Pyykin kontaminoitumisvaara pyykkialtaissa on matala, mutta kohtalainen silloin, kun puhtaalle pyykille käytetään samoja altaita kuin likapyykille.

Työasujen kuivauksessa käytetään suurissa pesuloissa tunneliviimeistelijää ja pienemmissä kuivureita tai kuivauskaappeja (Kivimäki 2000). Huonosti puhdistetut tuloilmakanavat, kuivureiden patteristot ja likainen sisääntuloilma voivat muodostaa ”matalan” kontaminoitumisvaaran (Tekstiilihuolto 2010). Kohtalainen kontaminoitumisvaara syntyy, jos pestyt tekstiilit varastoidaan kosteina tai ne jäävät kosteiksi kuivauksen jälkeen, jolloin pyykkit voivat alkaa kasvaa mikrobeja.

Käsihygienian vaikutus työasujen hygieniaan on pieni, mikäli samat ihmiset eivät käsittele puhdasta ja likaista pyykkiä (Tekstiilihuolto 2010). Kuljetuksiin liittyy pyykin kohtalainen kontaminoitumisvaara, jos autoja ei puhdisteta tai niissä on kosteutta, joka mahdollistaa mikrobien kasvun. Samat kuljettajat kuljettavat ja käsittelevät puhdasta ja likaista pyykkiä, mikä muodostaa kohtalaisen kontaminoitumisvaaran.

Viikattujen tekstiilien pidempiaikaisesta säilömisestä pesulassa tai elintarviketiloissa ei ole tehty hygieniatutkimuksia. Sairaalekstiilien ilmaperäisestä jälkikontaminoitumisesta sairaaltiloissa on tehty jonkin verran tutkimusta (Woodland ym. 2010). Pesulasta juuri tulleissa tekstiileissä on ollut 3 % bakteeripitoisuuksien nousu. Sairaalaoloissa kolme viikkoa säilytetyissä pyykeissä on ollut 16 % bakteerimäärien nousu verrattuna suoraan pesulasta mitattuihin tekstiileihin.

3.5 Pesula-alan laatustandardit ja etujärjestöt

Arnoldin (1938) tutkimukset loivat pohjan pesuloiden laatupolitiikalle. Pyykin laatutermi hygieenisesti puhdas ei tarkoita steriiliä vaan patogeenitonta tekstiiliä (Blaser ym. 1983). Pesula-alalla ei ole länsimaissa hygienialainsäädäntöä vaan pesulahygieniaohjeistuksesta huolehtivat kansalliset etujärjestöt, jotka edistävät alan toimintaedellytyksiä (American laundry news 2012). Pesula-alalla on kansainvälinen kattojärjestö The International Textile Service Alliance (ITSA), joka koostuu paikallisista kattojärjestöistä. Euroopassa toimii European Textile Service Association (ETSA 2004), Yhdysvalloissa Textile Rental Service Association of America (TRSA 2012) ja Australiassa Textile Rental & Laundry association Australia (TRLAA 2012). Kansalliset etujärjestöt, kuten Tekstiilihuoltoliitto, kuuluvat ETSA:an.

Euroopassa on kaksi mikrobiologiseen pesulahygieniaan liittyvää laatustandardia, EN SFS 14065 -laatujärjestelmä ja elintarviketeollisuutta koskettava/sivuava RAL-GZ992/3 -laadunvarmistusstandardi. Euroopan unioni hyväksyi vuonna 2002 vaara-analyysi- ja mikrobiologisen puhtauden valvontajärjestelmän (RABC) periaatteen mukaisen EN 14065 -standardin pesulaprosesseille (Fijan ym. 2008). Sen avulla varmistetaan erikoisalojen, kuten terveyssektorin sekä elintarvike- ja kosmetiikkateollisuuden työasujen mikrobiologinen laatu. Järjestelmä on luonteeltaan laatujärjestelmä, jossa pestyillä tekstiileillä ei ole mikrobiologisia tavoite- ja raja-arvoja (Hus 2004). Järjestelmässä on pesuprosessissa CP-pisteitä, joita kontrolloimalla eliminoidaan tai vähennetään biokontaminaatoriskiä. Näille pisteille on määritelty mikrobiologiset raja-arvot. Järjestelmä on verrattavissa elintarviketeollisuuden (Hazard Analysis and Critical Control Point) HACCP-järjestelmään (Fijan 2008). Pesuprosessin RABC-järjestelmässä ei ole kriittisiä hallintapisteitä (CCP), johtuen osittain siitä, ettei lopputuotteella ole tarkkoja mikrobiologisia laatuvaatimuksia. Pesuloiden EN SFS 14065 -laatujärjestelmän sertifioi ulkopuolisena tahona Suomessa VTT (Valtion teknillinen tutkimuslaitos).

Saksalainen RAL-GZ992-järjestelmä on laadunvarmistuksen standardi, jonka voi myös sertifioida (Kurtz 2012). Standardi jakautuu talous- ja yleistekstiileille RAL-GZ 992/1 (RAL Certification Mark Annual Certificate), sairaalatekstiileille RAL-GZ 992/2 (RAL Certification Mark Hygiene Certificate) sekä elintarviketeollisuuden tekstiileille RAL-GZ 992/3 (RAL Hygiene Certificate and European Certificate). RAL-järjestelmässä noudatetaan RACB- ja HACCP-protokollaa. RAL-järjestelmässä puhtaille tekstiileille on asetettu mikrobiologiset raja-arvot, jotka ovat elintarviketeollisuuden työasuille kokonaisbakteerit 50 pmy/dm^2 ja sairaalatekstiileille 20 pmy/dm^2 . Laitoksen pesun ja desinfektion laatu sekä pesulan tilojen hygienia- ja laatu määritetään standardimenetelmin ja verrataan valittuihin raja-arvoihin (Fijan ym.2008). ISO EN 14065- ja RAL-GZ 992-järjestelmät poikkeavat hieman toisistaan ja ovat toisiaan tukevia.

Yhdysvalloissa ei ole kansallista eikä osavaltiotasoista lainsäädäntöä eikä ohjeistusta puhtaan pyykin mikrobiologiselle laadulle (TRSA 2012). Yhdysvalloissa käytetään TRSA:n hygienia-sertifikaatteja, joita ovat Hygienically Clean ja Hygienically Clean Healthcare. Ne ovat verrattavissa eurooppalaisiin RAL-GZ 992 ja ISO EN 14065 -järjestelmiin. Järjestelmien tarkoitus on suojata kuluttajaa taudinaiheuttajia vastaan takaamalla patogeenittomat tekstiilit. Elintarviketeollisuuden työasuja koskeva Hygienically Clean-laatustandardi sisältää United States Pharmacopoeial Conventionin (USP 61) mukaisen mikrobiologisen rajatestin, jonka hyväksymisrajana on ≤ 20 pmy/ml tai pmy/g. Laatujärjestelmä sisältää BMP:t (Best Management Practices), joka vastaa elintarviketeollisuuden GMP:tä (Good Manufacture Practice).

Australiassa ja Uudessa-Seelannissa käytetään AS/NZS 4146:2000-laatustandardia (Standard Australia & Standard New Zealand 2000). Standardin perusajatus on se, että terveydenhuollon ulkopuolisten tekstiilien riskitekijöitä ei tunneta. Näitä voivat olla matkustajien kantamat taudit tai elintarviketeollisuuden *Salmonella* tai tekstiilien muut haitalliset aineet. Pyykin käsittelyn täytyy olla samantasoista sen lähteestä riippumatta. Kummassakaan maassa ei näyttäisi löytyvän pesulahygienialainsäädäntöä (TRLAA 2012).

Vaikka venäläiset ovat ulottaneet elintarviketeollisuutta koskevan laitoshyväksynnän koskemaan työasuja ja sitä kautta suomalaista pesulateollisuutta, heillä ei ole omia standardeja tai lainsäädäntöä pesulahygienian varmistamiseksi (Rasinmäki 2012). Venäjällä on ollut ongelmia terveydenhuollon tekstiilihuollon kanssa ja tekstiilihuollon modernisoinnissa (Texcare Forum Russia 2012). Venäläinen Texcare Forum Russia on ottamassa Hohenstein Instituutin kumppanikseen kehittämään venäläistä tekstiilihuoltoa. Venäjällä valmistui 2011 uusi terveydenhuoltosektoria koskeva hygienialaki, joka voi vaikuttaa terveydenhuoltosektorin kautta myös pesulatoimintaan (The Moscow Times 2011).

4 TEKSTIILIMIKROBIT JA HYGIENIAN HALLINTA

4.1 Elintarviketeollisuuden työasu- ja tuotantohygienian ominaispiirteet

Työasujen mikrobiologisia puhtausvaatimuksia ei ole määritelty Suomen laissa (Tekstiilihuolto 2010). Työasujen mikrobiologiselle puhtaudelle ei ole myöskään raja-arvoja, koska lainsäätäjät tai asiakkaat eivät ole niitä vaatineet. Työasuihin liittyvän lainsäädännön painopiste on työasujen käytössä ja työntekijöiden hygieniassa (Evira 2012c). Työntekijän tulee käyttää kenkiä, hiukset peittävää päähinettä, vaaleita suojavaatteita ja tarvittaessa lisäsuojavarusteita (Maa- ja metsätalousministeriö, 16/EEO/2001). Työtakin vaihtaminen puhtaaseen tauoilla vähentää tuotteisiin kohdistuvaa kontaminaatioriskiä. Jalkineiden tulee olla helposti puhtaana pidettäviä ja ehjiä tai kertakäyttöisiä. Tämän vuoksi elintarvikelaitoksissa vieraillessa pidetään kenkäsuoja.

Elintarviketeollisuuden suojarusteiden ja työasujen hygieniaa on tutkittu työ-, pinta- ja välinehygieniatutkimuksissa (Aarnisalo ym. 2006). Käytönaikaisissa tutkimuksissa työasusta ja välineistä on löytynyt muun muassa *Listeria*-bakteereita. Elintarvikkeiden käsittelypinnoilla hyvä aerobisten kokonaisbakteerien taso on 100–200 pmy/dm² (Rahkio ym. 2006; Määttä 2012). Suomalainen elintarviketeollisuus on siirtynyt kansallisesta lainsäädännöstä EU-lainsäädäntöön, jossa ei ole pintoja koskevia mikrobiologisia raja-arvoja (Euroopan komissio, 2073/2005).

Elintarviketeollisuudessa raaka-aineet ovat suuri mikrobien lähde (Rahkio ym. 2006). Raakamaidossa hyvän luokituksen raja on 50 000 pmy/ml: naudan, hevosen, vuohen ja lampaan ruhossa hyvän raja on 300 000 pmy/dm² ja sian ruhossa 1 000 000 pmy/dm² (Euroopan komissio, 2073/2005; maitohygienialiitto 2012). Lihan ja kalan käsittely on erittäin haasteellista, koska niiden suolistossa ja pinnalla on erittäin runsaasti bakteereja, jotka pilaavat tuotteita.

Pesulaprosessin bakteerit ovat mesofiilejä, jotka kasvavat parhaiten +30–40 °C:ssa ja lisääntyvät +20–40 °C:ssa (Björkroth 2007). Lihan ja erityisesti kalan pilaajat ovat psykrofiileja, jotka kasvavat pakkaslukemista +20 °C:een ja parhaiten +10–15 °C lämpötilassa. Elintarviketeollisuudessa on kuitenkin näistä lämpötiloista poikkeavia prosesseja, kuten fermentaatiot, joissa on korkeammat lämpötilat. Raaka-aineen laadun täytyy olla erityisen korkea. Mikäli fermentaatiossa on käymis- tai happanemishäiriö, pilaaja- ja patogeenibakteerien esiintymisriski tuotteessa kasvaa.

Elintarviketurvallisuuden kannalta oleellisia mikrobeja ovat elintarviketarttuvien bakteerit, joita ovat muun muassa tietyt *E. coli*, *Listeria monocytogenes*, *Salmonella spp.*, *S. aureus*, *Bacillus spp.*, *Cambylobacter* ja *Clostridium spp.* -bakteerit (Korkeala ym. 2007). Tarttuvien lähteet vaihtelevat, *S. aureus* on yleisimmin lähtöisin työntekijän iholta, *Clostridium spp.*, *Bacillus spp.* ja *L. monocytogenes* ovat maaperäbakteereja ja *E. coli*, *Salmonella spp.* ja *Cambylobacter* ovat suolistoperäisiä. Toinen merkittävä elintarviketurvallisuuden bakteeriryhmä on pilaajamikrobit, joihin kuuluu bakteereja, hiivoja ja homeita.

Prosessointitapa vaikuttaa paljon tuotantohygieniaan ja työsuhygieniatarpeisiin. Meijeriprosessissa raaka-aine kulkee putkistossa työntekijöiden ulottumattomissa, kun taas toisena ääripäänä on pien-yrityksissä käsin valmistettava kylmäsavukala (Fijan ym. 2007; Evira 2012b). Muut vaikuttavat seikat ovat: elintarvikkeen kohderyhmä ja valmiiden tuotteiden pilaantumisherkkyys (Euroopan komissio, 2006/125/EY). Valmistuksen on oltava sellaista, että näitä bakteereja siirtyy tuotteisiin mahdollisimman vähän.

Raaka-aineen laadun ja työhygienian lisäksi pakkaustavat vaikuttavat tuotteen säilyvyyteen ja siihen, millaiset bakteerit tuotteita pilaavat. Erilaisia pakkaustapoja ovat aktiivinen pakkaaminen, tyhjiö- ja suojakaasupakkaaminen sekä perinteinen pakkaus, jossa on ilmaa (Ahvenainen-Rantala 2005). Pakkaustavat vaikuttavat tuotteen pilaajamikrobiflooraan. Aerobisissa oloissa lihaa pilaavat muun muassa *Pseudomonas*-, *Acinetobacter*-, *Proteus*-, *Achromobacter*- ja *Moraxella*-bakteerit ja hapettomissa muun muassa *Leuconostoc*-maitohappobakteerit (Jay ym. 2005). Vakuumi- ja suojakaasupakkaamiseen on siirrytty siitä syystä, että aerobiset bakteerit ovat tehokkaampia ruuan pilaajia kuin anaerobiset bakteerit (Korkeala ym. 2007). Vakuumpakkaaminen on mahdollistanut anaerobisten *Clostridium*-bakteerien kasvun.

Valmiit elintarvikkeet luokitellaan säilyvyyden perusteella ja kaikkein helpoiten pilaantuvia ovat leikatut raat kasvi- ja eläinperäiset valmisteet tai kypsennetyt valmisruuat, joiden ohjeellinen säilytyslämpötila on alhainen (Evira 2012b). Sellaisenaan syötävistä elintarvikkeista, joihin liittyy *L. monocytogenes* -bakteerin aiheuttama kansanterveydellinen riski, on otettava näytteitä elintarvikkeiden käsittelyalueilta ja laitteista (Euroopan komissio, 2073/2005). Mikäli puhtausnäytteistä löytyy *L. monocytogenes* -bakteeria, saastumislähde ja -laajuus tulee paljastaa (Evira 2008). Käytännössä tämä tarkoittaa sitä, ettei tuotantotiloista ja sitä kautta työasuista saa löytyä *L. monocytogenes* -bakteeria. Turvallisena *Listeria*-bakteerirajana elintarvikkeessa on pidetty 100 pmy/g. Laitteita tai raaka-aineita käyttävien työntekijöiden pesulasta tulleita puhtaita työasuja ei ole *Listeria*-bakteerin osalta tutkittu.

4.3 Pyykin mikrobit ja mikrobiologinen puhdistuminen

Terveysthuoltosektorilta tulevan likapyykin mukana pesuloihin tulee erilaisia patogeeneja, kuten viruksia, sieniä ja bakteereita (Fijan ym. 2008). Christianin (1983) tutkimusryhmän bakteerien määräjärjestys oli kokonaisbakteerit > *Staphylococcus*-bakteerit > koliformit. Blaser (1983) tutkimusryhmällä lakanoissa ja froteissa oli bakteereita 10^6 – 10^8 pmy/dm². Bakteerien määräjärjestys oli gramnegatiiviset bakteerit > *Enterobacteriaceae* > grampositiiviset bakteerit > *Pseudomonadaceae* > *Staphylococcus* ja *Micrococcus* > grampositiiviset sauvat > *Neisseriaceae* ja *Vibrionaceae* > *Streptococcaceae*. Tyypillistä on myös bakteeritiheyksien suuri vaihtelu, esimerkiksi Christianin (1983) tutkimusryhmän sairaalan bulkkitavaralinjasta ottamissa likapyykinäytteissä aerobisten kokonaisbakteerien määrä vaihteli $<0,09$ – $5 \cdot 10^7$ pmy/dm².

Ennen 1980-lukua suurin osa pesuhygieniatutkimuksista perustui bakteereilla ympättyihin kankaisiin eikä pesun vaikutusta pyykin omaan bakteeristoon ollut tutkittu (Christian ym. 1983). Elintarvikepatogeenien, kuten *E. coli* ja *S. aureus* -bakteerien pesukestävyyttä on testattu viidellä eri lämpötilalla välillä +47,8–75 °C. Pesuprosessi osoittautui yhtä toimivaksi matalimmassa lämpötilassa kuin korkeimmassa. Samansuuntaisia tuloksia sai Smithin (1987) tutkimusryhmä, jonka tutkimuksessa pyykin puhdistui mikrobiologisesti +31,1 °C lämpötilassa.

Smith (1987) tutkimusryhmineen osoitti, että bakteerien vähenemä esipesussa oli 10^{3-4} pmy/ml ja desinfektiossa 10^3 pmy/dm². Blaser (1983) tutkimusryhmineen osoitti, että kuivaus kuumalla ilmalla vähentää mikrobeja 10^{1-10} pmy/dm², mutta Smithin (1988) ryhmällä vähenemä oli vain $10^{0,5-1}$ pmy/dm². Vähenemä riippuu todennäköisesti kuivauksen optimoinnista ja tekstiilien mikrobimäärästä. Kuumakäsittely hajottaa ja haihduttaa myös desinfektioainejäämiä.

Viimeisimmät pesuprosessien pesutehotutkimukset on tehty bioindikaattoritestillä (Fijan ym 2007). Bioindikaattori on 1 dm² kokoinen puuvillakangaspala, johon on yleensä ympätty mikrobipitoista sian verta. Rasva ja proteiinit luovat mikrobeja suojaavan kalvon. Pesuprosessin toimivuutta tutkittiin *Mycobacterium terrae*, *Enterobacter aerogenes* ja *Pseudomonas aeruginosa* -bakteereilla. Antifungaalisuudelle käytettiin *Candida albicans* -hiivaa. Bakteerimäärän vähenemä pesuprosessissa tulee olla 10^5 . Tulokset osoittivat, että *E. faecium*, *S. aureus*, *E. aerogenes* ja *P. aeruginosa* -bakteerit selvisivät +60 °C pesuprosessista, jossa ei ollut esipesua. *E. faecium* selvisi ainoana täydellisestä +60°C pesuohjelmasta. Esipesuttomasta +75 °C ei selvinnyt yksikään laji. Pesuohjelmasta, jossa lämpötilat olivat +30 ja +45 °C, selvisivät kaikki mikrobit.

Molekyylibiologisia tutkimusmenetelmiä ei ole käytetty pesulahygieniatutkimuksissa yhtä norovirusten pesukestävyyttä käsittelevää tutkimusta lukuun ottamatta (Fijan ym. 2007). Norovirus on ribonukleiinihappo- eli (RNA)-virus, jonka pesukestävyyttä tutkittiin käänteistranskriptio-polymeraasiketjureaktio (RT-PCR) -menetelmällä pesulan jätevedestä. Tutkimuksessa osoitettiin, että pesuprosessi ei riitä tuhoamaan viruksia. Norovirusten leviämistä on vaikea hallita, koska vatsataudin aikana virusta erittyy 10^{8-9} partikkelia/g ulostetta ja infektiivinen annos on pieni, vain 10–100 viruspartikkelia (Maunula & von Bonsdorff 2007).

Pestyjen tekstiilien yleisimpiä jälkikontaminaatiobakteereja ovat ihobakteerit: *Micrococcus sp.*, *Corynebacterium sp.* sekä koagulaasinegatiiviset *Staphylococcus*-bakteerit. *Micrococcus sp.* ja *Staphylococcus sp.* -bakteerien suuresta lukumäärästä voidaan päätellä, että työntekijöillä on huono käsihygienia, pesulailma on kontaminoitunutta, pinnat ja tekniset laitteet voivat olla kontaminoituneita tai työntekijät liikkuvat likaisen ja puhtaan tilan välillä tarpeettomasti (Fijan ym. 2005). *Bacillus sp.*, *Corynebacterium sp.* ja gramnegatiiviset sakrofyttiset sauvat indikoivat epätäydellisestä tekstiilien puhdistumisesta ja erityisesti desinfektioista. Näiden bakteerien runsaus kertoo, että bakteerit ovat tulleet resistentiksi desinfektioaineille. Näin ollen puhtaan pyykin bakteriokoostumuksesta voidaan päätellä, missä pesulaprosessin osassa on ongelmia. Tämän lisäksi pesutyissä vaatteissa esiintyy homeita, hiivoja ja *S. aureus* -bakteereita.

Suomesta ei löydy tutkimustietoa, että pesty pyykki olisi aiheuttanut sairastumisia. Muualta maailmasta on raportoitu huonosti pestyjen sairaalatekstiilien kautta levinneistä infektioista (Kirby ym. 1956; Gontzaga 1964; Brunton 1995; Wilcox & Jones 1995). Infektioita ovat aiheuttaneet muun muassa *Streptococcus*-, *Enterococcus*- ja *Staphylococcus*-bakteerit ja ehkä myös koliformit. Viimeisimmät kansainväliset tutkimukset osoittavat mikrobiresistenssin ja sairaalabakteeri-infektioiden olevan kasvamassa (Fijan ym. 2006).

Itiölliset bakteerit ovat melko hankalia elintarviketeollisuuden kannalta, koska monet bakteeri-itiöt kestävät korkeita lämpötiloja ja elintarviketeollisuuden linjaston puhdistuskemikaaleja (Korkeala ym. 2007). Puhtaassa pyykissä olevat *Bacillus cereus* -bakteeri-itiöt ovat aiheuttaneet itäessään aivokalvontulehdustapauksen (Barrie ym. 1994). *B. cereus* bakteeri lisääntyi pyykkisäkeissä sopivan lämpimissä olosuhteissa, minkä seurauksena säkeissä varastoiduissa liinavaatteissa oli huikea määrä bakteeri-itiöitä. Desinfiointiaineet ja lämpö eivät olleet tuhonneet bakteereita ja panostoiminen kone saastui. Kone puhdistui seuraavassa pesussa, mutta pyykkiin jäi itiöitä.

4.3.1 Pyykin mikrobien tutkiminen

Tekstiilihygieniää on tutkittu huuhteluvedestä, kontaktimaljoilla ja huuhtomalla tekstiiliä nesteellä (Arnold 1938; Fijan ym. 2006a; Wirtanen & Salo 2011). Nicholson (1970) tutkimusryhmineen huomasi, että kontaktimenetelmällä ei saa todellisia tekstiilin mikrobitasoja. Ryhmä valmisti näytteet uuttamalla mikrobit tekstiilistä nesteeseen. Saatua nestettä voidaan siirrostaa maljalle tai suodattaa. Bakteerit voidaan siirtää suodattimella agarin pintaan (Nicholson 1970).

Pesulabakteerit ovat identifioitavissa melko pitkälle yksinkertaisilla mikrobiologisilla menetelmillä, joita ovat gramvärjäys sekä hemolyysi-, katalaasi- ja oksidaasitesti (Fijan ym. 2008). Blaser (1984) tutkimusryhmineen käytti edellä mainittuja testejä ja varmisti bakteerit API-testeillä (BioMereux, Ranska).

Gramnegatiiviset *Enterobacteriaceae*-sauvabakteerit ovat laajasukuinen ryhmä, joihin kuuluu elintarvikepatogeeneja kuten enterohemorraagiset *E. coli* (EHEC)- ja *Salmonella*-bakteerit (Korkeala ym. 2007). Enterobakteerit fermentoivat glukoosia ja ne voidaan selekoida muista bakteereista viljelemällä näytteitä Violet Red Bile Glucose (VRBG)-agareilla (Mossel ym. 1962; Fijan ym. 2008). Enterobakteerit voidaan erottaa koliformeista Violet Red Bile (VRB)-agarilla, koska koliformit fermentoivat myös laktoosia. VRB- ja VRBG-agaralustojen kristallivioletti ja sappisuolat estävät *Enterococcus*- ja *Staphylococcus*-bakteerien kasvun. Enterobakteerien katalaasiaktiivisuus vaihtelee lajien sisällä. Enterobakteerit ovat oksidaasinegatiivisia, mikä erottaa ne oksidaasi-positiivisista *Pseudomonas*-bakteereista.

Pseudomonas-bakteerit ovat gramnegatiivisia sauvabakteereja, jotka voidaan tunnistaa muista bakteereista gramlinjasta sekä oksidaasi- ja katalaasiaktiivisuudesta (Fijan ym. 2008). *Pseudomonas*-bakteerien, erityisesti *P. aeruginosa*, identifioinnissa voidaan käyttää cetrimide-agaria (Fijan ym. 2008; Lab M 2006). *Staphylococcus*-, *Micrococcus*- ja *Streptococcus*-bakteerit ovat grampositiivisia kokkeja, jotka voidaan erottaa katalaasi- tai oksidaasitestin sekä kasvumuodon perusteella (Taulukko 1).

Taulukko 1. Grampositiivisten kokkibakteerien tunnistaminen.

Bakteeri	Katalaasi	Oksidaasi	Kasvumuoto
<i>Staphylococcus</i>	+	-	ryväs, 4-ryhmä, pari
<i>Micrococcus</i>	+	+	4-bakteerin ryväs
<i>Streptococcus</i>	-	-	Ketju

Katalaasitesti ei ole aivan aukoton, koska muun muassa katalaasiposiitivisia *Streptococcus*-bakteereita on löydetty (Rurangirwa ym. 2000). Tämän tyyppiset erot ovat tyypillisiä myös muille bakteerilajeille, esimerkiksi *L. monocytogenes* ja *Lactococcus lactis* -bakteereja on sekä katalaasiposiitivisia että -negatiivisia kantoja (van Dissel ym. 1993; Facklam & Elliott 1995; de Moreno de LeBlanc ym. 2008). Tämän vuoksi katalaasi- ja oksidaasitestin lisäksi tarvitaan lisätunnistusmenetelmiä bakteerilajin varmistamiseksi.

Streptococcus-bakteerisuku on laaja ja heterogeeninen. Sen kolme tunnetuinta alaryhmää ovat *Enterococcus*, *Lactococcus* ja *Streptococcus* (Mentula 2008, Schleifer & Kilpper-Bätzin 1987 mukaan). Ne ovat ominaisuuksiltaan melko samantyyppisiä bakteereita ja niiden erottelu on edelleen kirjavaa. Fijan (2008) tutkimusryhmineen erotti *Enterococcus*-bakteerit *Streptococcus*-bakteereista pyraasiaktiivisuuden avulla ja viljelemällä bakteeria Colombian veri- ja sappieskuliiniagarilla. Jälkimmäisellä agarilla *Enterococcus* muodostaa tummentuman pesäkkeen ympärille (Svan 1954). Sappisuolojen ansiosta D-serotyypin *Streptococcus*-bakteerit eivät kasva alustalla.

Vaikka *Micrococcus* eroaa muista bakteereista oksidaasipositiivisuuden ansiosta, tulos tulee varmistaa, kuitenkin molekyylibiologisin menetelmin tai serologisilla testeillä (Kloos ym.1974; Madigan ym. 2000). Grampositiivinen *Corynebacterium* voidaan tunnistaa katalaasipositiivisuuden, oksidaasinegatiivisuuden sekä omaperäisen hiukan käyrän solumuodon perusteella mikroskopoimalla (Fijan ym. 2008).

Staphylococcus-bakteerit voidaan selekoida muista bakteereista Baird Parker -agarilla, jolla *S.aureus* kasvaa erittäin hyvin (LabM 2012; Thermo Scientific 2012). *S. aureus* kasvaa harmaanmustana, kiiltävänä, pesäkettä ympäröi ohut reunus ja agarissa on 2–5 mm leveä kirkastumavyöhyke. *S. epidermis* kasvaa matan mustana pesäkkeenä ja *S. saprophytis* kasvaa epämääräisen muotoisina pesäkkeinä ja voi muodostaa kirkastumahalovyöhykkeen ympärilleen. *Micrococcus* kasvaa pienenä ruskean-mustana pesäkkeenä. Hiivat kasvavat vaaleina pesäkkeinä.

Homeita ja hiivoja voidaan kasvattaa muun muassa Potato Dextrose (PD)-, vierre- tai Oxytetracycline yeast extract (O.G.Y.E)-agarilla. Homeet ja hiivat voidaan tunnistaa mikroskopoimalla (Fijan 2008). Kaikkia edellä mainittuja mikrobeja voidaan tutkia molekyylibiologisin menetelmin hyödyntämällä geenejä (Polymerase chain reaction) PCR-tekniikalla (Madigan ym. 2000).

4.3.2 Rikastusmenetelmät

Elintarviketeollisuudessa käytetään rikastusmenetelmiä monien bakteerien lainsäädännöllisessä tutkimuksessa (Evira 2012a). Rikastusmenetelmä on herkkä kvalitatiivinen menetelmä, jolla selvitetään onko näytteessä yleensä bakteereita. Rikastusviljely on usein kaksivaiheinen: esirikastusvaiheessa pyritään elvyttämään stressaantuneet bakteerisolut, ja rikastusvaiheessa pyritään lisäämään tutkittavien bakteerien määrää siten että kilpailevan mikrobiflooran kasvu estyisi. Rikastusviljelyllä saadaan osoitettua bakteeri hyvin vähäisestä lähtömäärästä. *Listeria*- ja *Salmonella*-bakteereita tutkitaan elintarviketeollisuusympäristöstä ja tuotteista rikastusviljelymenetelmin (Johansson & Hakola 2012; Johansson & Hakola 2012). Rikastusviljelyllä päästään suoraviljelyä parempaan herkkyyteen, koska monille elintarvikkeille on asetettu raja-arvoja.

Salmonella-bakteeria ei saa tutkittua ilman rikastusviljelyä. Rikastusviljelystä huolimatta *Salmonella* on vaikea eristää ja muut bakteerit häiritsevät usein tunnistusta (Waltman 2000). *Salmonella*-bakteerien kasvukyky vaihtelee eri agareilla riippuen eristyspaikasta. *Salmonella*-bakteerille on olemassa muun muassa Xylose Lysine Deoxycholate (XLD)-, Önöz- ja Rambach-agarit. *Salmonella*-bakteerin elintarviketutkimuksissa viljelty rikastenäytteet viljellään kahdelle selektiiviselle XLD- ja Rambach-agarille (Johansson & Hakola 2010). Tällä kombinaatiolla saavutetaan hyvä tunnistusherkkyyys ja selektiivisyys (Cooke ym 1998). XLD-agar on erittäin herkkä, mutta sen ongelmana ovat väärät positiiviset tulokset (El-Serif & Elmossalami 1997). Löydös tulee varmistaa Urea- ja Triple sugar Iron (TSI)-agarilla tai L-lysiinidekarboksilaasiliemitestillä.

Lihasta eristetty *L. monocytogenes* -bakteeri kasvaa hyvin Palcam-, Oxford- ja *L. monocytogenes* blood (LMBA) -agarilla (Pinto ym. 2001). LMBA:lla on ympäristönäytteiden *L. monocytogenes* tunnistusherkkyyys 90 % ja Palcam- ja Oxford- agareilla 36,4 %. Nykyisin ISO 11290 *Listeria* -bakteerin tutkimuksessa käytetään kromogeenisia agareita, joilla on aiempaa parempi herkkyyys ympäristönäytteitä tutkittaessa. Näillä alustoilla *L. monocytogenes* voidaan erottaa muista *Listeria*-suvun bakteereista pesäkemorfologian perusteella. LAB M listeria Harlequin alustalla *L. monocytogenes* kasvaa opaalinvihreänä pesäkkeenä, jota ympäröi vaalea halorengas (LAB M 2012). Muut *Listeria*-bakteerit kasvavat ilman halorengasta. Mahdollinen bakteerilöydös on varmistettava jatkotutkimuksin, jotka ovat Eviran ohjeessa joko ramnoosi- ja ksyloosiputket tai vaihtoehtoisesti Api-testi (Johansson & Hakola 2012). Ympäristönäytteiden tutkimuksessa käytettävät menetelmät ja elatusaineet voivat olla parhaita tekstiilien bakteerien tutkimukseen.

5. TYÖASUJEN SYTOTOKSISUUS

5.1 Tekstiilien toksikologia

Työasuissa käytetään yleensä puuvillaa tai puuvillan ja keinokuidun, esimerkiksi polyesterin sekoitetta tai keinomateriaalia (Kwintet Finland Oy 2012; Putsiini 2012). Puuvillan viljelyssä ja tekstiilien prosessoinnissa käytetään paljon erilaisia haitallisia kemikaaleja. (Klemola ym. 2008, Trotman 1984 mukaan; Challa 2012). Kankaita ja tekstiilejä valmistetaan maissa, joissa tekstiilien valmistuksessa käytettävillä kemikaaleilla ei ole lainsäädäntöä ja valvontaa, joten suurin käyttöturvallisuusriski liittyy tekstiilityöntekijöiden työturvallisuuteen (Hatch ym. 1984; Nugari ym 1987; Niven et al. 1997; Järholm 2000; Challa 2012).

Työasujen ja muiden tekstiilien mahdolliset vaikutukset kohdistuvat käyttäjän ihoon. Tekstiilin turvallisuutta voidaan parantaa pesemällä se ennen käyttöä. Pesussa ylimääräinen väriaine ja tekstiilien valmistuksessa käytettävät myrkylliset aineet poistuvat. Toisaalta myös tekstiilien pesussa käytetään vahvoja kemikaaleja, jotka koostuvat emäksistä ja hapoista, tensideistä, tahrannoistoaaineista ja huuhteluaineista (Christian ym. 1983).

Pyykinpesuprosesseissa on tapahtunut sekä positiivista että negatiivista kehitystä (Fijan ym. 2007). Pesukoneet ja mittausteknologia ovat kehittyneet huomattavasti aikojen saatossa, mikä mahdollistaa jatkuvan omavalvonnan muun muassa pH-arvon osalta. Kuitenkin ekonomisuuteen pyrkivä tekstiilien pesu lyhyine pesuohjelmineen sekä alempine lämpötiloineen, joissa käytetään kemiallista desinfektiota, asettaa haasteen tekstiilien huuhtelun ja neutraloinnin onnistumiselle ja kemikaalijäämättömyydelle.

5.2 Pesukemikaalien käyttöturvallisuus ja toksikologia

Teollisuuspesulakemikaaleilla on pitkä käyttöhistoria ja niiden turvallisuus on parantunut aikojen saatossa. Erityisesti 1900-luvun alkuaikoina käytettiin jopa vaarallisia, muun muassa fluoridi-pohjaisia pesukemikaaleja (Arnold 1938). Kemikaalipuolella on tapahtunut kehitystä tensidi- ja desinfiointiaineissa.

Elintarviketeollisuuden työasujen tahranpoistossa käytetään klooripohjaisia valkaisuaineita (Palosaari 2010). Erityisesti vahva hypokloriitti ärsyttää ihoa, aiheuttaa kipua, rakkuloita ja tulehdusta (Työterveyslaitos 2011). Pienemmät pitoisuudet voivat aiheuttaa dermatistista hypokloriitti-allergiaa (Osmudsen ym. 1978). Yli 5 % pitoisuutena hypokloriitti, vahvasti emäksinen pesutehostin ja neutralointiin käytettävä muurahaishappo syövyttävät ihoa (Tamro 2011). Happamien ja emäksisten aineiden syövyttävyys ja ärsyttävyys on eräs sytotoksisuuden muoto (Eskes ym. 2012).

Pesulateollisuudessa käytetään klooripohjaisia desinfiointiaineita. Hypokloriitti on käytetty 1960–1970-luvulta lähtien pyykin valkaisussa ja sillä on yli 100-vuoden käyttöhistoria (Nicholson 1970). Hypokloriittia sisältävän Dakin'sin liuos kehitettiin ensimmäisen maailmansodan aikaan avohaavojen hoitoon (Kozol ym. 1988). Hypokloriitin sytotoksiset ominaisuudet tunnetaan hyvin lääketieteellisten ja puhtaan veden käyttösovelluksien vuoksi (Hidalgo ym. 2002). Se on 0,0005 % pitoisuudessa sytotoksinen, mutta ei tappava. Se tappaa solut 15 minuutissa 0,5 % -pitoisuudessa, mutta pienemmissä pitoisuuksissa se estää tulehdusreaktion syntymisen ja märkimistä. Hypokloriitin teho perustuu aktiiviseen klooriin eli hypokloriitti-anioneihin, jotka ovat voimakkaita hapettimia (Matsumoto ym. 1995). Hypokloriitin reaktiivisuus on pH-riippuvainen ja pH:n aletessa sen reaktiivisuus kasvaa. Happamissa olosuhteissa hypokloriitti hajoaa hypokloriitti-ioneiksi ja myrkylliseksi kloorikaasuksi (Työterveyslaitos 2011). Hypokloriitti on mutageeninen ja genotoksinen aine (Buschini ym. 2004). Pesuloissa käytettävät peretikkahappo ja hypokloriitti muodostavat mutageenisia ja genotoksisia yhdisteitä reagoidessaan orgaanisen lian kanssa (Maffei ym. 2005).

Perinteisesti kemikaalien, esimerkiksi kosmetiikan, turvallisuutta ja sytotoksisuutta on tutkittu *in vivo*-eläinkokeilla, joilla on saatu tietoa tuotteiden monimutkaisista ihovaikutuksista pitkäaikaisessa toistuvassa käytössä (Eskes ym. 2012). Eläinkokeilla on kyetty mittaamaan tuotteen karsinogeenisuutta, herkistävyyttä, toksikokinetiikkaa ja vaikutuksia lisääntymiseen. Menetelmiä on ollut vaikea korvata muilla menetelmillä, vaikka kosmetiikkadirektiivi (EU Directive 2003/15/EC: EC, 2003) kielsi eläinkokeiden käytön vuoteen 2009 mennessä.

5.2.1 Pestyjen tekstiilien pesuainejäämien tutkiminen

Pesulateollisuus mittaa tekstiilien pesuainejäämiä epäsuorilla kemiallisilla menetelmillä huuhteluvedestä (Tekstiilihuoltoliitto 2010). Huuhteluveden alkalisuutta ja desinfiointi- ja valkaisuaineiden aktiivihapen ja vapaan kloorin pitoisuutta seurataan omavalvonnassa. Käytössä olevat menetelmät antavat jonkinlaisen kuvan yksittäisen pesuainekomponentin pitoisuudesta tekstiilissä. Tuloksista ei pysty pääättelemään tekstiilin toksisuutta kokonaisuutena.

Pesukemikaalijäämien mittaamiseen voidaan käyttää muun muassa bakteerien kasvunestoon perustuvia biologisia menetelmiä, joita käytetään elintarviketeollisuudessa. Toinen nopeampi vaihtoehto on mitata jäämät valobakteerilla (Lappalainen 2001). Kuitenkin mikrobien metabolia ja toksisten aineiden käsittelykyky poikkeaa aiotumallisten solujen metaboliasta (von Wright ym. 2010). Tekstiilien mahdolliset toksiset aineet vaikuttavat ihoon (Klemola ym. 2008). Ihmisen ihosta eristetyllä solulinjalla pystytään ennustamaan yhdisteiden vaikutuksia paremmin kuin bakteeri- ja eläinsoluilla.

Pyykin pesukemikaalijäämistä ei ole tehty eläinsoluilla tehtyjä *in vitro* -sytotoksisuustutkimuksia. Tekstiilien valmistuksessa käytettävien kemikaalien sytotoksisuutta on tutkittu jonkin verran. Klemola (2008) tutkimusryhmineen tutki erilaisten väriaineiden ja tekstiilien sytotoksisuutta ihon keratiini (HaCat)-soluilla. Klemola arvioi, ettei pestyyn pyykkiin liity turvallisuusriskejä. Toisaalta pesussa käytetään voimakkaita sytotoksisia kemikaaleja. Tämä tarkoittaa sitä, että myös pesty pyykki voi olla sytotoksista.

Eräs yksinkertaisimmista kokonaistoksisuutta mittaavista *in vitro* -menetelmistä on ISO 10993:5 HTD -standardiin pohjautuva sytotoksisuutta mittaava menetelmä (Borenfreund & Puerner 1984). Menetelmässä solut altistetaan tekstiileistä eristetyille uutteille ja solujen muodonmuutosten ja kuolleisuuden perusteella arvioidaan sytotoksisuusarvot. Samalla menetelmällä voidaan mitata akuuttia ja kroonista toksisuutta muuttamalla altistusaikaa (Kodjikian ym. 2005). Ihmisen verkkokalvon pigmenttiepiteelisoluilla voidaan määrittää akuuttia toksisuutta 5–240 minuutin altistusajalla ja kroonista toksisuutta kuuteen altistuspäivään saakka.

Kudostason vaikutusten mittaamiseen tarvitaan kehittyneempiä menetelmiä. Kosmetiikka-teollisuudessa mitataan akuuttia syövyttävyyttä ja ärsyttävyyttä EpiSkin- ja EpiDerm-menetelmillä (Eskes ym. 2012). Menetelmissä käytetään erilaistuneita ihon soluja, jotka ovat muodostaneet ihmisen ihon kaltaisen solurakenteen (Stokes 2001). Jokaiselle testille on määritelty solujen elossapysymisrajat, esimerkiksi EpiSkin corrosive-mallissa tutkittavaa liuosta laitetaan soluille 3, 60 ja 240 min ajaksi. Vaikutusta arvioidaan mittaamalla mitokondriaalinen aktiivisuus, jonka alenema kertoo potentiaalisesta ihosyövyttävyydestä. Samanlaisia menetelmiä on kehitetty esimerkiksi rotan ihosoluista, jonka avulla kemikaalin syövyttävyyttä voidaan verrata eläinkokeista saatuihin tuloksiin. Ärsyttävyyttä varten on kehitetty muun muassa EpiDerm SIT, EpiSkin SIT ja EpiEthics RHE -menetelmät. Pesuloissa käytetään ihoa syövyttäviä ja ärsyttäviä happoja ja emäksiä, joiden jäämien mittaamiseen kyseiset menetelmät sopisivat.

Soluilla tehtävät *in vitro* -menetelmät eivät ole täysin yhdenmukaisia eläinkokeilla tehtyjen tutkimusten kanssa (Stokes 2001; Eskes ym. 2012). *In vitro* -menetelmät ovat nykyäänkin hiukan puutteellisia, mutta niillä saadaan aiempaa yksityiskohtaisempaa ja monipuolisempaa tietoa toksisten aineiden vaikutusmekanismeista solutasolla. *In vitro* -menetelmien käyttöönottoa on jarruttanut menetelmien erilaisuus ja yritysten tutkijoiden asenne.

6 YHTEENVETO

Tekstiilihuolto on merkittävä elintarviketeollisuuden tukiprosessi. Pestyillä tekstiileillä ei ole länsimaissa lainsäädäntöä (Tekstiilihuolto 2010; TRLAA 2012; TRSA 2012). Tekstiiliteollisuuden hygieniahallintaa ohjataan kansallisilla etujärjestöillä, jotka ohjeistavat pesuloiden toimintaa. Olemassa olevat kansainväliset standardit ovat kutakuinkin samanlaisia, mutta niissä on pieniä eroja.

Elintarviketyöasuhygienian lainsäädännöllinen painopiste on asujen käytössä eikä pestyjen tekstiilien mikrobiologisessa laadussa (Maa- ja metsätalousministeriö, 16 EEO 2001). Pestyissä tekstiileissä on elintarvikkeiden käsittelypintoihin ja erityisesti raaka-aineisiin nähden vähän mikrobeja (Rahkio ym. 2006; Fijan ym. 2008). Lainsäädännön tavoite on edistää hyvää työhygieniää, jolla vähennetään bakteerien siirtymistä valmiisiin tuotteisiin. Lainsäädännön varsinainen tavoite on turvata elintarvikealan toimintaedellytykset ja taata asianmukaiset ja turvalliset elintarvikkeet kuluttajille.

Tekstiilien hygieniaa on tutkittu elintarviketeollisuudessa pintahygieniatutkimuksissa ja pesuloissa sairaalahygienian lähtökohdista. Puhtaissa sairaalatekstiileissä on iho- ja ympäristöperäisiä koagulaasinegatiivisia *Staphylococcus*-, *Micrococcus*- ja *Coryne*-bakteereita (Fijan ym. 2008). Niissä on myös itiöllisiä *Bacillus*-bakteereita, homeita ja hiivoja. Pestystä pyykistä lähtöisin olevia infektioita on ollut vähän verrattuna esimerkiksi elintarvikeperäisiin ruokamyrkytyksiin (Niskanen ym. 2010). Tekstiilien hygieniaan vaikuttaa esipesun toimivuus, koska pyykin mikrobiologinen puhdistuminen tapahtuu peseytymällä (Fijan ym. 2007). Erittäin likaisten pyykkien mikrobiologiseen puhdistumiseen vaaditaan lämpö- tai kemiallinen desinfektio pääpesuvaiheessa.

Teollisuuspesukemikaaleilla on pitkä käyttöhistoria. Pesukemikaalit ovat vahvoja syövyttäviä, happeuttavia ja reaktiivisia kemikaaleja, jotka ovat itsessään sytotoksisia. On mahdollista, että myös pestyt tekstiilit ovat sytotoksisia.

KOKEELLINEN OSUUS

7 TUTKIMUKSEN TAVOITTEET

Tutkimuksen tavoitteena oli selvittää puhtaiden työasujen hygieniataso käyttöönottovaiheessa. Lisäksi kahdesta laitoksesta otettiin likaisista työasuista näytteet ja vaatteiden puhdistumistaso määritettiin. Asuista tutkittiin kontaktimaljamenetelmällä kokonaisbakteerit, hiivat ja homeet, gramnegatiiviset sauva- ja itiölliset *Bacillus*-bakteerit sekä grampositiiviset kokkibakteerit, erityisesti *Staphylococcus* ja *Micrococcus*. Tämän lisäksi asuista tutkittiin kvalitatiivisella rikastusviljelymenetelmällä *Salmonella*- ja *Listeria*-bakteerit sekä tutkittiin toksisuutta humaanilla kohdunkaulasyövän solulinjalla (HeLa-229) -soluilla.

8 TUTKIMUSAINEISTO JA MENETELMÄT

8.1 Työasujen mikrobien määrittäminen

Työasujen mikrobien määrittämisessä käytettiin kahta menetelmää. *Salmonella*- (NMKL 71:1999) ja *Listeria*-bakteerit (ISO 11290–1:1996) rikastettiin kangaspaloista ja muut tutkittavat lajit otettiin suoraan asuista itse valetuille 25 cm² kontaktimaljoille (Greiner Bio-one, Unkari) EN ISO 18593:2004 -standardin mukaisesti. Jälkimmäinen menetelmä valittiin siitä syystä, että pesulat käyttävät hygieniakontaktimenetelmää omavalvonnassa, joten mukana olevat pesulat pystyvät tarvittaessa helposti seuraamaan tekstiilihygieniää omatoimisesti. Tekstiiliteollisuudessa käytettävä elintarviketekstiilihygieniää mittaava RAL-GZ 992/3 laadunvarmistuksen standardi perustuu pintamaljojen käyttöön.

8.2 *Listeria*- ja *Salmonella* -bakteerien tunnistaminen rikastusmenetelmällä

8.2.1 Näytteet ja niiden alkuperä

Salmonella- ja *Listeria*-bakteerien rikastusviljelyä varten otettiin yksi värillinen ja yksi vaalea työtakki näytteiksi jokaisesta elintarviketehtaasta. Tutkimuksessa olevia yrityksiä nimitettiin koodeilla A, B ja C. Näytteen laadun kannalta olennainen asia oli se, että näyteasu oli käytössä. Laadullisena tavoitteena oli, että näytteen olisi oltava juuri pesusta tullut ja sijaita käyttöönottopisteessä. Näitä ehtoja ei kyetty täysin täyttämään, koska yritysten tekstiilihuollot poikkesivat toisistaan ja yritykset halusivat antaa tutkimusta varten rikkonaisia tai käytöstä poistettuja työasuja. Erityisesti *Salmonella*-tutkimus oli käynnistettävä heti näytteenoton jälkeen.

Tavoitteena oli ottaa näytteiksi käytössä olevat takit elintarvikelaitoksien pisteestä, jossa takit puetaan päällä. Tavoitteesta jouduttiin tinkimään ja A-tehtaan käytössä olevat Putsiini-merkkiset näytetakit otettiin näytteiksi pesulasta. B-tehtaan käytöstä poistetut takit pestiin ja otettiin näytteiksi pesulasta. Asut olivat Leijona-merkkisiä lämpötakkeja. Valkean asusteen neliöpaino oli uutena 245 g/dm² ja värillisen 300 g/dm². C-tehtaan ensimmäiset näytetakit olivat ohuita, kuluneita, rikkiäisiä ja olivat olleet työasuvarastossa tuntemattoman ajan. *Listeria*-viljely uusittiin A- ja C-tehtaiden osalta. A-tehtaalta tutkittiin uusiksi valkoinen takki ja C-tehtaalta juuri pesusta tulleet vaalea takki ja suunnitelmasta poiketen yhdet värilliset housut.

8.2.2 Viljely ja tunnistaminen

Tutkittavien bakteerien rikastusviljelyssä käytettiin kaksivaiheista kvalitatiivista viljelymenetelmää, jonka tavoitteena oli selvittää onko näytteissä tutkittavaa bakteeria, muttei niiden määriä. Viljelyssä käytettävät elatusaineet ja niiden lisäaineet on esitetty Taulukossa 2.

Taulukko 2. *Listeria* - ja *Salmonella* -bakteerien rikastusviljelyissä käytetyt elatusaineet ja supplementit.

Bakteeri	Kasvatusliemi- tai alusta, valmistaja, valmistusmaa
<i>Listeria</i>	½ Fraser-liemi, SupplementtiX164, Lab M, Englanti Fraser-liemi, Supplementti X165, Lab M, Englanti Harlequin <i>Listeria</i> Cromogenic, Lisäaine 1. X010 (sykloheksaamidi), Lisäaine 2. (polymysiini B, ceftasidiimi), Lab M, Englanti
<i>Salmonella</i>	Puskuroitu peptonivesi, Oxoid, Englanti RVS (Rappaport Vassiliadis <i>Salmonella</i>) -liemi, LAB M, Englanti XLD (Ksyyloosi, glysiini deoksysholaatti) -agar, LAB M, Englanti

Listeria-bakteerin viljely aloitettiin esirikastuksella. Vaatteesta leikattiin 25 g näyte, joka laitettiin 225 ml:aan ½ Fraser-lientä kolmena rinnakkaisena näytteenä. Näyte painettiin nesteen alle lasisauvalla ja inkuboitui +30 °C:ssa 24 h (±1 h). Tämän jälkeen näytettä sekoitettiin ja 0,1 ml esirikastuslientä siirrettiin 10 ml:aan Fraser-rikastuslientä sekä 10 µl silmukalla hajotusviljelmäksi kromogeeniselle Harlequin-agaralustalle. Rikastuslientä inkuboitui 48 h +37 °C:ssa. Kasvatusalustana käytettiin ohjeesta poiketen kromogeenista Harlequin-alustaa, koska vaihtoehtoisen Pallcam-agarin selektiivisyys ympäristönäytteiksi rinnastettavissa tekstiileissä on todennäköisesti heikko ja *Listeria monocytogenes* Blood Agaria (LMBA) ei ollut saatavilla (Pinto ym. 2001). Eri-tyisesti tehdas A:n värillisen työasun esirikasteen ja rikasteen väri muuttui viljelyn aikana.

Salmonella-bakteerin viljely aloitettiin kolmen rinnakkaisnäytteen esirikastuksella. Siinä 25 g näytettä punnittiin 225 ml:aan puskuroitua peptonivettä ja näytettä inkuboitui ravistelijassa +37 °C:ssa 17 h (16–30 h). Kasvatuksen jälkeen 0,1 ml sekoittamatonta esirikastuslientä otettiin läheltä pintaa ja siirrettiin 10 ml:aan RVS-rikastelientä. Rikastetta inkuboitui noin 20 h (18–27 h) +41,5 °C:ssa. Tämän jälkeen näytteestä tehtiin 10 µl silmukalla hajotusviljelmä ohjeesta poiketen vain XLD-agarille. Näytettä inkuboitui noin 20 h (18–27 h) +37 °C:ssa.

Salmonella pystytään tunnistamaan XLD-agarilta pesäkkeestä, joka on musta keskeltä (Johansson 2007). Yleisin *Salmonella* -pesäke on punertava läpinäkyvä mustalla keskuksella. Rikkivety-negatiivinen kanta kasvaa punertavina pesäkkeinä ja lakto- tai rikkivetypositiivinen kasvaa keltaisena pesäkkeenä, jossa on musta keskus. Mahdollinen *Salmonella*-epäily tuli kuitenkin varmistaa viljelemällä bakteeri toisella *Salmonella*-selektiivisellä alustalla ja API E20-testillä (BioMerieux, Ranska).

Mahdollinen *Listeria* tunnistettiin kromogeeniselta Harlequin-agarilta vihreänä pesäkkeenä ja mikäli bakteeri oli *L. monocytogenes*, opaalinvihreää pesäkettä ympäröi halorengas (LAB M 2012). Mahdolliset *Listeria*-epäilyt testattiin API Listeria -pikatestillä (BioMerieux, Ranska), mikä aloitettiin viljelemällä pesäke veri- ja PC-agarmaljalla +37 °C 24 h. Verimaljalta katsottiin hemolyysi, otettiin muutamia pesäkkeitä 1 Farlandin suspensiota varten ja API-testausta jatkettiin kyseisen menetelmän pikaohjeen mukaisesti. PC-maljalta tehtiin bakteerien gramvärjäys, sekä katalaasi- ja oksidaasitesti.

8.3 Mikrobien tunnistus ja laskeminen kontaktimaljoilta

Ennen tutkimusta ei tiedetty, onko puhtaissa vaatteissa mikrobeja, koska kylmänä vuodenaikana tehtyjä tutkimuksia elintarviketeollisuuden työasuista ei löytynyt. Näin ollen ei tiedetty onko asuissa mikrobeja ja kontaktimaljatutkimus jaettiin pilotointi- ja monitorointitutkimuksiin. Pilotoinnissa otettiin muutamasta värillisestä asusta 3–5 rinnakkaismaljaa agaria kohti ja viiden vaalean työasun hihoista otettiin yksi kontaktimaljanäyte jokaisella agartyypillä asua kohti. A- ja C-laitoksesta otettiin näytteet asiakkaan pyynnöstä myös likaisista työasuista. Näytteenottoaikana aamulla likaisia vaatteita ei ollut tutkimusta varten kuin muutaman takki, jonka vuoksi rinnakkaisnäytteiden lukumäärä alennettiin viidestä kolmeen.

Puhtaista vaatteista näytteet pyrittiin ottamaan kontaktimaljoille vaatenippujen alimmasta, kolmesta nipun välissä olevasta sekä päällimmäisestä työasusta ja tarkoituksenmukaista oli myös että työasut olivat juuri pesusta tulleita. C- ja A-laitoksesta saatiin asianmukaiset tuoreet näytteet. B-laitoksen tekstiilihuolto poikkesi muista ja heillä takkimäärä oli mitoitettu tarkasti viikoittaisen käytön mukaan. Tästä johtuen näytteet jouduttiin ottamaan lomalaisten ja vierasvaatteiden nipuista, joiden hyllyssä oloaikaa ei tiedetty tarkasti. Pilotoinnin tulosten ja kokemusten perusteella tutkittavia mikrobilajeja sekä näytteenottoa voitiin hioa varsinaista tutkimus- eli monitorointivaihetta varten.

Monitorointivaihe toistettiin kolme kertaa ja tutkimus painottui vaaleisiin työasuihin toimeksiantajien toiveiden mukaisesti. Pilotoinnin tulosten perusteella Baird Parker -näytteet päätettiin ottaa jokaisesta laitoksesta. Tutkittavat mikrobilajit ja agarit valmistajineen on esitetty Taulukossa 3.

Taulukko 3. Kontaktimaljojen agarit tutkittavine mikrobilajeineen

Mikrobi	Reagenssin nimi, valmistaja, valmistusmaa
Kokonaisbakteerit	PC (Plate count)-agar, Lab M, Englanti
<i>Enterobacteriae spp.</i>	VRBG (Violet Red bile glucose)-agar, Lab M, Englanti
<i>Bacillus sp.</i>	Blood agar, defibrinoitu veri 5 %, Lab M, Englanti
Hiivat ja homeet	O.G.Y.E. (oxytetracycline glucose yeast) -agar, Lab M, Englanti
<i>Staphylococcus sp.</i>	Baird Parker agar, lisäaine kananmuna-telluriitti-emulsio, Lab M, Englanti

Bacillus spp.-bakteerien selektiossa käytettiin hyväksi lämpökestäviä itiöitä (Fijan ym. 2008). Maljoja pidettiin lämpökaapissa +75 °C 10 min ajan, millä pyrittiin tappamaan vegetatiiviset solut. Kontaktimaljat laitettiin pusseihin inkuboinnin aikaisen kuivumisen estämiseksi. PC-, veri- ja Baird Parker -maljoja viljeltiin +30 °C 24–48 h. O.G.Y.E.-maljoja viljeltiin 48–72 h +25 °C ja VRBG maljoja +37 °C 24 h. Kasvatusta jatkettiin tarvittaessa.

Viljelyn jälkeen bakteeripesäkkeet laskettiin ja ryhmiteltiin pesäkkeiden ulkonäön eli pesäkemorfologian perusteella. Pesäkelukumäärä ilmoitettiin pmy/dm². Pesäkkeistä arvioitiin väri, kiiltävyys (kiiltävä/matta), säännöllisyys (pyöreä/epäsäännöllinen), kuperoisuus (kupera/tasomainen/suippo) ja koko (pieni/erittäin suuri). Jokaisesta pesäketyypistä tehtiin puhdasviljelmä PC-agarille, josta tehtiin gramvärjäys sekä katalaasi- ja oksidaasitestit. Hemolyysi tutkittiin verimaljalle tehdystä puhdasviljelmästä.

Likaisista asuista otettujen näytemaljojen kanssa toimittiin samoin kuin puhtaista vaatteista otettujen näytteiden kanssa. Mikäli malja oli ylikasvanut, sen bakteerisuhteet määritettiin silmä-määräisesti prosentteina. Kontaktimaljoilta tehtiin suora gramvärjäys mahdollisimman monesta erilaisesta pesäkkeestä bakteerisuhteiden selvittämiseksi, ei niinkään lajimääritykseen.

Maljoilta otettiin kaksi sauvabakteeria tarkempiin jatkotutkimuksiin. Verimaljalta otettiin gram-positiivinen β -hemolyyttinen sauvabakteeri, josta tehtiin itiövärjäys. Baird Parker -alustalta poimittiin epäilty *S. aureus* -pesäke, josta tehtiin puhdasviljelmä verimaljalle +37 °C ja 24 h. Viljelty mikrobi testattiin API-staph REF 20 500 -ohjeen mukaisesti pikatestillä (BioMeriex, Ranska). Bakteerista tehtiin myös PC-maljalle puhdasviljelmä katalaasi- ja oksidaasitestit sekä gramvärjäystä varten.

Yhden kontaktimaljan pinta-ala oli 25 cm². Jokaisen monitorointikerran maljojen keskiarvo ja keskihajonta laskettiin maljatyypeittäin ja tulos kerrottiin neljällä, jolloin mikrobipitoisuudet saatiin yhtä desimetriä kohden.

8.3.1 Pesuprosessin teho

Pesuprosessin pesutehoa arvioitiin Mann-Whitneyn U-testillä A- ja C-laitosten työasuista. U-testi tehtiin verimaljoja lukuun ottamatta kaikilta agareilta saaduista tuloksista. Testissä huomioitiin kontaktimaljojen bakteerimäärien vaihteluväli.

8.4 Sytotoksisuus

Kankaan sytotoksisuus määritettiin yhden kerran tehtävällä Highest Tolerated Dose (HTD)-testillä ja käytettävässä tutkimuksessa sovellettiin lääketieteellistä ISO 10993:5 standardia. Soluviljelyssä käytettiin Soveltavan biotekniikan instituutin/ REB Hela-soluviljelyohjetta (Kinnunen ym. 2002). Näytteinä käytettiin samoja asuja, joista tehtiin viimeisimmät *Listeria*-bakteerien rikastusviljelyt (ks. 8.2.1). Näytteet oli säilötty pakasteeseen noin -20 °C:een.

8.4.1 Solulinja

Sytotoksisuustesti suoritettiin kohdunkaula (HeLa-229) -syöpäsoluilla, jotka oli saatu Valtion teknilliseltä tutkimuslaitokselta (VTT). Alkuperäisen suunnitelman mukaiset paremmin ihon kemikaalialtistuksen tutkimiseen soveltuvat humaanista alkuperää olevat ihon keratiini (HaCat) -solut jouduttiin korvaamaan tällä solulinjalla.

8.4.2 Soluviljely

Soluviljelyn tavoitteena oli saada tuotettua riittävä määrä soluja sytotoksisuustestiä ja ylläpito-pulloja varten. Ensiksi solut herätettiin nestetypestä -196 °C:sta, jonka jälkeen soluja viljeltiin +37 °C ja 5 % hiilidioksidipitoisuudessa jakoa varten. Soluja oli riittävästi, kun pullon 75 cm² pohjan peittävyys eli konfluenttisuus oli 70–80 %. Solumatto irrotettiin pohjasta ja jaettiin sekä nuorennettiin uusiin pulloihin. Toimenpiteen ansiosta solukasvu pysyi hyvänä, solut eivät kärsineet tilan ahtaudesta ja irtosivat toisistaan helposti. Kun soluja oli tuotettu riittävän monta pulloa sytotoksisuustestiä varten, solujen viljely aloitettiin kuoppalevyillä. Viljelyssä tarvittiin kasvatusliemiä ja solujen irrotukseen käytettäviä liuoksia, jotka on esitetty Taulukossa 4.

Taulukko 4. Käytettävät kasvatusmediumit ja solujen irrotuksessa käytettävät aineet

Reagenssityyppi	Reagenssin nimi, valmistaja ja valmistusmaa tai maanosa
Kasvatusliemi	MEM (Minimum essential medium eagle 10X), Sigma M9288, Saksa NAHCO ₃ 7,5 %, Euroclone ECM0980D, Eurooppa L-glutamiini, Euroclone, ECB3000D, Eurooppa NEAA (Non-Essential amino acid Solution 100X), Euroclone ECB0180L, Eurooppa FBS (Fetal bovine serum EU Approved), Euroclone ECS0180L, Eurooppa (Inaktivoitu lämpökäsittelyllä) Steriili ultrapuhdas vesi
Pesuliuos	PBS-puskuri (Dulbecco's Phosphate Buffer Saline, without Ca- and Mg-chlorine), Sigma D1408, Yhdysvallat
Solujen irrotus-kemikaali 1	0,02 % etyleenidiamiinitetraetikkahappo (EDTA) -liuos (Prepared DPBS, without Ca and Mg), Sigma, Yhdysvallat
Solujen irrotuskemikaali 2.	Trypsin 0,05 % and EDTA 0,02 %, Euroclone, Eurooppa
Väriaine	Erytsiini B, Sigma E 9259, Yhdysvallat
Positiivikontrolli	2,4-dinitrofenoli (DNP), Merck 3464, Saksa

Soluja kasvatettiin 75 cm² filtterikorkillisissa pulloissa (Tissue Culture Flask, Greiner bio-one, Saksa), jossa oli 25 ml kasvatuslientä. Soluille vaihdettiin kasvatusliemi 2–3 kertaa viikossa. Solujen irrotus nuorentamista ja näytemaljoilla kasvatusta varten aloitettiin poistamalla kasvatusliuos ja huuhtelemalla solut 10 ml:lla PBS-liuosta kaksi kertaa. Pesuliuos pipetoitiin laipioon, jotta solut eivät irronneet. Pesuneste poistettiin imulla ja pulloon lisättiin 2–3 ml trypsiini-EDTA-liuosta, jonka jälkeen pulloa inkuboitiin +37 °C 2–5 min. Irronneiden solujen joukkoon lisättiin 8 ml kasvatuslientä ja solut suspensoitiin pipetillä. Ylläpitoviljelmää varten laitettiin 2–3 pisaraa suspensiota ja 25 ml kasvatuslientä pulloon. Levyjä varten oleviin pulloihin pipetoitiin 2–3 ml solususpensiota ja 25 ml kasvatuslientä.

8.4.3 Kuoppalevyjen valmistus ja solujen altistus

Näytteinä käytettiin tutkittavista kankaista valmistettuja vesiuutteita. Näytteen valmistus poikkesi ISO 10993:5 standardista, jossa käytettiin 10 g näytemäärää. Työtä varten oli pakastettu 2 g (10*2 cm) näytteet, jotka sisälsivät paloja hihasta, taskusta, takin liepeestä ja kainalosta. Näyte sisälsi moninkertaisen kankaan paloja. Näytettä pienitettiin 1 cm paloiksi ja lopulliseksi näytemääräksi jäi 1,5 g, johon lisättiin 37,5 ml steriiliä vettä (0,038 g/ml). Näyte jätettiin uuttumaan ravistelijaan yön yli huoneenlämpöön.

Kuoppalevyjen valmistus aloitettiin irrottamalla solut ja suspensoimalla ne uuteen kasvatusliemeen. Tavoitteena oli saada jokaiseen kuoppalevyn kuoppaan 200 µl suspensiota, jossa oli 10 000 solua. Solususpensiosta otettiin 0,5 ml mikrosentrifuugiputkeen. ja 20 µl solususpensionäyte värjättiin 80 µl:lla erytrosiiniä. Värjättyt solut laskettiin hemosytometrillä (Bürker, Saksa) ja solususpension solumäärä laskettiin kaavan 1 mukaisesti.

Kaava 1:

$$(a * c * 10^4)/b = X, \text{ missä}$$

a = laskettu solumäärä (kappaletta)

b = laskettujen ruutujen määrä (0,1 µl)

c = laimennoskerroin (5)

X = solususpension solumäärä (kappaletta/ml)

$$\text{Solut: } \frac{325 * 2 * 10^4}{10} = 0,65 * 10^6 \text{ kpl/ml}$$

Tavoitteena oli tehdä 44 ml liuosta, johon tarvittiin 40,6 ml kasvatusliuosta ja 3,4 ml bakteerisuspensiota.

Bakteerisuspension määrä laskettiin kaavalla:

$$\frac{0,05 \cdot 10^6 \cdot 44}{0,65 \cdot 10^6} = 3,4 \text{ ml}$$

Kuoppalevyille pipetoitiin bakteerisuspensiota ja solujen annettiin laskeutua 10 min laminaarissa, minkä jälkeen ne siirrettiin inkubaattoriin vuorokaudeksi.

Solujen altistus aloitettiin kuoppien konfluenttisuuden tarkastamisella ja uutteen käsittelyllä, jossa 4 ml uutetta ja 1 ml väkevyydeltään viisinkertaista mediumia sekoitettiin keskenään. Steriilisuodattimella 0,2/0,8 µm (Pall, Yhdysvallat) suodatettua medium-uuteseosta pipetoitiin 200 µl kuoppariville numero 12 kuoppaan neljänä rinnakkaisnäytteenä. Liuosta sekoitettiin pipetillä varovasti ilmakuplia välttämällä 3 kertaa, ja 200 µl näytettä siirrettiin kuoppariville numero 11. Näytteen laimentamista jatkettiin edellä mainitulla tavalla kuoppariville numero 1 saakka, jonka jälkeen 200 µl siirrettiin jäteastiaan. Näytteen uutepitoisuus puolittui jokaisessa siirrossa. Näytteen pitoisuus eli kuinka paljon kangasta on näytteessä, on esitetty Taulukossa 5.

Taulukko 5. Uutteiden valmistus näytteen valmistuksessa. Vahvin uutepitoisuus altistustestissä on lihavoitu.

	Näytettä	Liuosmäärä	Pitoisuus (g/l)	Laimennoskerroin
Uutteessa	1,5 g	37,5g	40	1:25
Mediumissa	4 ml	1 ml	32	1:31.25
12-kuopassa	200 µl	200 µl	16	1:62,5
11-kuopassa			8	1:250
1-kuopassa			$7,8125 \cdot 10^{-3}$	1:116 096

8.4.4 HTD-testi

HTD-testissä kuopat mikroskoipoitiin yhden ja standardista poiketen neljän vuorokauden kuluttua altistuksen alkamisesta. Standardissa altistusaika on 3 vuorokautta. Solumuutoksien ja toksisuuden suhdetta arvioitiin asteittain Taulukon 6 mukaan. Solumuutoksia ovat kasvun estyminen, vakuolisaatio, pyöristyminen, solujen kutistuminen, muodon muutokset, solujen takertuminen ja solujen hajoaminen.

Taulukko 6. HTD-testin arviointi solumuutoksien vastaavuus ja toksisuus. Mikäli kaikki kuopat ovat niin toksisia, että muutosarvio on 4, näytettä on laimennettava.

Muutos		Solumuutosarvio	Toksisuus
0	-	Ei muutoksia	Ei
1	+	Minimaaliset havaittavat muutokset, <25 % soluista muuttunut	Lievästi
2	++	Selviä muutoksia 25–50 % soluista muuttunut	Kohtalainen
3	+++	Paljon muutoksia 50–75 % soluista muuttunut	Erittäin
4	++++	>75 % soluista muuttunut	Erittäin
			Laimennettava

Jotta tiedettäisiin, mikä pesukemikaali aiheuttaa sytotoksisuutta, niistä valmistettiin pesuainekontrollit, jotka tutkittiin. Pesuaineiden sytotoksisuusalue esituttiin, jotta varsinaisessa tutkimukseen käytettäisiin oikeita pitoisuuksia. Kaikkia pesukemikaaleja ei tutkittu vaan testiin valittiin pesun loppuvaiheessa syötettäviä kemikaaleja (Taulukko 7).

Taulukko 7. Tutkittavat pesuainekontrollit vaikuttavine yhdisteineen

Kontrolli	Kemikaali	Kemikaalityyppi	Vaikuttava yhdiste	Laitoksesta
1	Lunosept concentrate	Tahranpoistoaine	Hypokloriitti (nestemäinen)	B
2	Clax multi free	Pesuaine	Lipeä, tensidit, valkaisuaineet	A
3	Clax spirit	Tehostaja	Entsyymi	A
4	Lunosept	Tahranpoistoaine	Hypokloriitti (kiinteä)	C
5	Bisoft eco	Huhteluaine	Bis(asosykloosietyyli)hydroksi etyylimetyyliammoniakki metoksi	B

Kiinteistä kontrollinäytteistä tehtiin veteen 5 % liuos (500 mg/10 ml). Kaikkien pesuainekontrollien valmistus tapahtui lisäämällä näyte HeLa-solujen kasvatusliuokseen, josta esitutkimustulosten perusteella näytettä laimennettiin edelleen 4 ml mediumiin. Kontrollit suodatettiin 02/08 µm steriilisuoattimella ja jaettiin kuopille neljänä rinnakkaisena näytteenä. Solulinjan positiivikontrolleina eli myrkyllisyyskontrollina toimi Dinitrofenoli (DNP). Negatiivikontrollina oli pelkkä kasvatusliuos. Pesuainekontrollien pitoisuudet on esitetty Taulukossa 8.

Taulukko 8. HTD-testiin valitut Christeysin ja DiverseysLeverin pesuainekontrollit. Pitoisuudet= mg/l. Vapaan kloorin pitoisuudet on esitetty *kursivoituna* ja suurin pitoisuus HTD-testissä kuopassa on **lihavoituna**.

Työvaihe	Lunosept concentrate (kiinteä)	Clax multi free	Clax spirit entsyymi	Lunosept concentrate (nestemäinen)	Bisoft eco
Liuotus	50000	50000			
Uutteessa	5000	5000	1000→100	100000	100000
Mediumissa	250	125	5	5000	2500
Kuoppa 12	125	62,5	2,5	2500	1250
Kuoppa 11	62,5	32,25	1,25	1250	626

9 TULOKSET

9.1 *Salmonella* ja *Listeria*

Elintarvikelaitosten kannalta oleelliset tutkittavat bakteerit olivat *Salmonella*, *Listeria* ja koliformit. *Salmonella*-bakteereita ei havaittu rikastusnäytteissä.

Listeria spp. -bakteereita ei löytynyt elintarvikelaitosten A ja B työasuista. C-elintarvikelaitoksen värillisestä työasusta löytyi *Listeria spp.* -epäily, joka kasvoi kromogeenisella agarilla opaalin-vihreinä pesäkkeinä. Koska A- ja C-laitoksen takkien esirikasteesta ei viljelty ohjeen mukaisesti ensimmäisellä kerralla ja C-laitoksesta otetut takit eivät olleet edustavia, näytteenotto jouduttiin uusimaan. A-laitokselta otettiin pelkästään valkea takki, josta ei löytynyt *Listeria*-bakteeria. C-laitoksen värillisestä housusta viljelystä esirikasteliemestä löydettiin toinen *Listeria*-epäily, joka kasvoi kromogeenisella alustalla opaalinvihreänä pesäkkeenä (Taulukko 9).

Taulukko 9. Jatkotutkimuksiin otetut *Listeria*-epäilyjen tulokset. G= gramvärjäys, K= katalaasi, O= oksidaasi, H= hemolyysi ja API= API *Listeria* pikatesti. ID%= identifikaatioprosentti

	G	K	O	H	API
1.Värillinen takki <i>Listeria spp.</i> epäily	+	+	+	α	<i>L.grayi</i> ID 99,9 %
2.Värillinen housu <i>Listeria spp.</i> epäily	+	+	+	α	<i>L.welsmeri</i> ID 72,6 %

9.2 Mikrobilajit ja niiden määrät kontaktimaljoilta

9.2.1 Mikrobimäärät

Työasujen kontaktimaljoilla tehtävä tutkimus aloitettiin vaaleista ja värillisistä työasuista tehtävällä pilotointitutkimuksella. Taulukossa 10 on esitetty A-, B- ja C-elintarvikelaitosten asujen mikrobimäärät pilotoinnissa.

Taulukko 10. A-, B- ja C-laitoksen työasujen hygieniataso pilotoinnissa, keskiarvo \pm keskihajonta. RAL-GZ992/2 ≤ 20 pmy/dm² terveydenhuollolle hyväksytty taso; RAL-GZ992/3 ≤ 50 pmy/dm² elintarviketeollisuudelle hyväksytty taso. >50 pmy raja-arvon ylittävät tulokset on lihavoitu.

Alusta	Vaalea			Värillinen		
	A	B	C	A	B	C
PC	$>173 \pm 191$	18 ± 9	30 ± 17	18 ± 21	30 ± 39	50 ± 38
Baird Parker	18 ± 27	2 ± 4	8 ± 8	0	0	-
Veri	28 ± 37	1 ± 5	21 ± 22	105 ± 58	17 ± 21	16 ± 4
O.G.Y.E.	35 ± 39	0*	$10 \pm 11^*$	67 ± 13	0*	$13 \pm 23^*$
VRBG	0	0	0	0	0	0

* O.G.Y.E.-maljoissa ei käytetty antibioottia pilotoinnissa, joten niillä kasvoi lähinnä bakteereita, joten tulokset eivät ole kelvollisia. Kontaktimaljatulokset on esitetty Liitteissä 2, 3 ja 4.

Keskiarvon ja keskihajonnan summa edustaa keskimääräistä 5–95 % vaihteluvälistä. Baird Parker -pintamaljat otettiin hiukan myöhemmin käyttöön ja ensimmäiset näytteet otettiin rinnakkain monitorointivaiheen kanssa.

Pilotointivaiheessa osoittautui, että tutkimusta pystytään jatkamaan monitorointivaiheeseen eli työasuissa oli erilaisia mikrobeja. Pilotoinnissa mikrobitasot olivat sen verran korkeita, että tutkimukselle oli tarvetta suunnitellussa muodossa. Monitorointivaiheessa elintarvikelaitosten toiveesta tutkimus keskitettiin vaaleisiin työasuihin (Taulukko 11).

Taulukko 11. A-, B- ja C-laitoksen pilotoinnin työasujen hygieniataso, keskiarvo \pm keskihajonta. RAL-GZ992/2 ≤ 20 pmy/dm² hyväksytty taso terveydenhuollolle; RAL-GZ992/3 ≤ 50 pmy/dm² hyväksytty taso elintarviketeollisuudelle. >50 pmy raja-arvon ylittävät tulokset on lihavoitu.

Alusta	A-laitos		B-laitos	C-laitos	
	Likainen	Puhdas		Likainen	Puhdas
PC	>400	18 ± 24	5 ± 8	>272	11 ± 13
	>400	8 ± 16	13 ± 18	>260	6 ± 7
	>400	14 ± 14	3 ± 2	>140	12 ± 15
Baird Parker	>400	6 ± 8	3 ± 5	81 ± 101	2 ± 5
	69 ± 77	13 ± 20	0	45 ± 51	1 ± 2
	59 ± 62	3 ± 5	0	0	4 ± 4
Veri	>400	10 ± 15	3 ± 2	>140	11 ± 15
	>400	6 ± 6	10 ± 6	>382	13 ± 13
	>400	$>100^*$	1 ± 2	>112	6 ± 7
O.G.Y.E	34 ± 35	3 ± 4	0	0	10 ± 14
	49 ± 32	1 ± 2	2 ± 4	17 ± 15	8 ± 18
	15 ± 22	1 ± 2	0	16 ± 11	0
VRBG	1 ± 2	0	0	1 ± 2	0
	0	0	0	0	0
	31 ± 53	0	0	5 ± 2	0

* ¼ maljasta oli täysin ylikasvanut.

9.2.2 Puhtaiden asujen bakteerien luokittelu

Pilotointivaiheessa bakteerit, hiivat ja homeet maljattiin alustavasti kaikista laitoksista yhtenä eränä, jotta bakteeriflooran kokonaiskuva saataisiin selville (Taulukko 12). Kaikkien tehtaiden vaaleista vaateista otettiin 17 näytettä, joista 14 PC-maljalta ja 3 verimaljalta. B-laitoksen värillisistä vaateista otettiin 6 näytettä. Verimaljoilta pyrittiin valitsemaan morfologialtaan *Bacillus*-bakteereille tyypillisiä suuria epäsäännöllisiä pesäkkeitä.

Taulukko 12. Pilotointivaiheen bakteerien jakauma. K=katalaasi ja O=oksidaasi

	Vaalea	Värillinen
1. Grampositiivinen kokki (K +, O +)	2	2
2. Grampositiivinen kokki (K +, O -)	8	
3. Grampositiivinen ovaali sauva-kokki	1	
4. Gramnegatiivinen kokki	1	
5. Gramnegatiivinen sauva	1	1
6. Grampositiivinen sauva	4	3
7. Hiiva		
8. Tunnistamaton		

Vaaleissa vaatteista löydettyjen grampositiivisten sauvabakteerien muoto vaihteli pienikokoisista pitkiin ohuisiin ja paksuihin sauvabakteereihin. Paksu sauvabakteeri osoittautui itiövärjäyksessä *Bacillus*-bakteeriksi. Yksi grampositiivisista oksidaasinegatiivisista kokeista oli β -hemolyttinen. Maljoilla oli myös muita vastaavan mallisia pesäkkeitä.

Monitorointivaiheessa bakteerit ja hiivat luokiteltiin ryhmiksi ja jokaisesta ryhmästä tehtiin yhdestä mikrobista puhdasviljelmä. Bakteerit viljeltiin PC- ja verimaljalle lukuun ottamatta verikontakti- ja O.G.Y.E. -maljaa. Bakteerit gramvärjättiin, katalaasi- ja oksidaasitestattiin ja verimaljalta katsottiin hemolyysi. Hiiva viljeltiin O.G.Y.E-agarille ja puhdasviljelmä gramvärjättiin ja katalaasitestattiin. Tulokset on esitetty taulukossa 13.

Taulukko 13. Puhtaiden työasujen monitorointivaiheen PC-maljoilla kasvavat bakteerit A-, B- ja C-elintarvikelaitoksesta. Otanta suoritettiin 15 maljalta tehdasta kohti. Ensimmäinen luku on löydetty mikrobimäärä ja kauttaviivan jälkeen oleva luku kuvastaa näytteen kanssa pesäkemorfologisesti samankaltaista pesäketyyppiä.

		A	B	C
PC	Otanta 15 maljalta	10/50	12/26	13/37
	1. Grampositiivinen kokki (C + ja O +)	4/19	4/7	4/9
	2. Grampositiivinen kokki (C + ja O -)	2/12	6/16	
	3. Grampositiivinen ovaali bacilli	1/9		2/4
	4. Grampositiivinen bacilli	1/2		2/6
	5. Gramnegatiivinen kokki		2/3	
	6. Gramnegatiivinen sauva			3/8
	7. Home	1/1		
	8. Hiiva			1/3
	9. Tunnistamaton	1/1		
Baird Parker	Otanta 20 maljalta	9/50	4/5	7/18
	1. Grampositiivinen kokki (C + ja O -)	7/49	4/5	5/13
	2. Tunnistamaton	1/1		2/4
Veri	Otanta 15 maljalta (A-tehdas 10 maljaa)	12/21	9/14	11/37
	1. Grampositiivinen sauva β -hemolyysi		2/4	
	2. Grampositiivinen sauva α -hemolyysi	1/1	1/1	
	3. Grampositiivinen sauva γ -hemolyysi		1/1	1/1
	4. Grampositiivinen kokki (C + ja O +)	2/4	3/4	6/22
	5. Grampositiivinen kokki (C + ja O -)	5/11	2/4	2/5
	6. Gramnegatiivinen bakteeri	2/2		1/7
	7. Tunnistamaton	3/3	1/1	2/2
O.G.Y.E	Otanta 15 maljalta			
	1. Hiiva	4/5	2/2	8/23
	2. Home	2/3		6/14
	3. Bakteeri	2/2	2/2	2/9

Baird Parker -agarilta B-tehtaan näytteessä yhdessä näytteessä oli heikko oksidaasiaktiivisuus ja toisessa α -hemolyttisyyttä. C-tehtaan kummastakaan tunnistamattomasta näytteestä ei löydy katalaasi- ja oksidaasi-testin tulosta.

Monitorointivaiheessa kaikki tutkitut bakteerit olivat katalaasipositiivisia. Verimaljoilta tutkittiin itiöllisiä grampositiivisia sauvoja. Verimaljoille ja Baird Parker -agarille viljellyissä bakteereissa ei ollut β -hemolyyttisiä *S.aureus* -bakteereille tyypillisiä pesäkkeitä. O.G.Y.E-maljalla kasvaneet homeet olivat vihreitä ja konidioiden muoto oli sormimainen. Yhdellä maljalla kasvoi kellertävä nopeakasvuinen home, joka muodosti vihertävän itiörakenteen. Lajia ei tunnistettu. Osa home-lajeista jäi liian nuoriksi, jotta niiden itiöiden väriä olisi kyetty tunnistamaan. C-laitoksen 2-monitorinnissa ainoastaan ylimääräinen antibiootiton O.G.Y.E-malja kasvoi. Maljan kymmenestä pesäkkeestä 5 tunnistettiin hiivoiksi. Puhtaista asuista otetuilla VRBG-maljoilla ei ollut kasvua, joten vaatteista ei löytynyt enterobakteereja ja kyseiseen bakteeriryhmään kuuluvia koliformeja.

9.2.3 Likaisten asujen bakteerien luokittelu

Likaisten vaatteiden tutkimus tehtiin A- ja C-laitosten pyynnöstä, jolloin B-laitos jäi tutkimuksesta pois. A- ja C-tehtaiden likaisista työasuista otetuilla maljoilla kasvoi samantyyppisiä lajeja kuin puhtailla maljoilla. PC- ja verimaljoilla kasvoi yleensä niin runsaasti bakteereita, ettei pesäkkeiden morfologiaa saanut määritettyä. Maljoilla oli kuitenkin puhtaista vaatteista poikkeavia bakteereja ja bakteerit määritettiin suoralla gramvärjäyksellä. Taulukossa 14 on esitetty kontaktimaljoita suoralla gramvärjäyksellä saadut gramtulokset.

Taulukko 14. A- ja C-tehtaan likaisten työasujen veri- ja PC-maljoilla kasvavat gramvärjätyt bakteerit pilotointi- ja monitorointivaiheessa.

	A	C
Otanta 15 maljalta	47	30
1 Grampositiivinen kokki	21	17
2. Grampositiivinen sauva	16	3
3. Gramnegatiivinen	5	8
4 Grampositiivinen ovaali bakteeri	3	2
5. Hiiva	2	

A-tehtaan kaksi tutkittua sauvabakteeria olivat α - ja β -hemolyyttisiä itiöllisiä bakteereita. *Bacillus*-bakteerille tyypillisiä laakoja valkeita pesäkkeitä oli 10 % kokonaismäärästä ja erilaisten sauvabakteerien osuus puhtaita asuja suurempi. Kontaktiverimaljoilla havaittiin hemolyyttisyyttä, ja kaikkein voimakkaimmin ylikasvaneita maljoja lukuun ottamatta hemolyyttisten pesäkkeiden määrä oli noin 5 kpl/ malja. Verimaljalta löytyi mikroskopoimalla hiiva.

Baird Parker -agarilta otetut mikrobinäytteet puhdasviljeltiin. Kasvavat mikrobit poikkesivat puhtaista vaatteista otetuista näytteistä, joissa kasvoi vain oksidaasinegatiivisia grampositiivisia bakteereja. Likaisista vaatteista otetut kontaktimaljat kasvoivat myös oksidaasiposiitivisia kokkeja ja tummia homeita, joissa itiöt olivat pyöreissä koteloissa.

Likaisista vaatteista otettiin monitorointivaiheessa näytteet O.G.Y.E. -maljoille. A-laitoksesta otetuissa näytteissä kasvoi lähinnä hiivoja ja yksittäisiä homeita ja C-laitoksessa kasvoi 2/3 homeita ja 1/3 hiivoja.

VRBG-alustalta eristetyt A-laitoksen bakteerit olivat katalaasiposiitivisia. Bakteerit olivat gramnegatiivinen sauva, diplosauva ja kokki, joista kokki oli oksidaasiposiitivinen ja muut oksidaasinegatiivisia. C-laitoksella olevat bakteerit olivat pieniä sauvoja, jotka olivat katalaasi- ja oksidaasiposiitivisia. Voimakkaasti oksidaasiposiitivinen bakteeri oli α -hemolyyttinen.

9.2.4 Vaatteiden puhdistuminen

Puhdistumaa voitiin tutkia vertailemalla A- ja C-laitoksista likaista ja puhtaista asuissa olevia bakteerilukumääriä. Maljojen data asetettiin suuruusjärjestykseen, jossa A oli puhdas ja B likainen (Taulukko 15). Menetelmänä käytettiin Mann-Whitneyn U-testiä, jossa suuri $U_{15:n}$ ja $U':n$ välinen ero tarkoittaa hyvää puhdistumaa (Taulukko 16). Tuloksissa on huomioitava maljoilla olevat minimi ja maksimipesäkemäärät.

Taulukko 15. U-testin datasarja A- ja C-laitoksesta. Luvut ovat pesäkelukumäärä kontaktimaljaa kohden, jossa B on likainen ja A puhdas.

A-laitos						C-laitos					
PC		Baird Parker		O.G.Y.E		PC*		Baird Parker		O.G.Y.E	
B	>100	B	45	B	20	B	>100	B	49	B	11
B	>100	B	37	B	19	B	>100	B	25	A	10
B	>100	B	14	B	15	B	>100	B	11	B	7
B	>100	B	13	B	13	B	>100	B	9	A	7
B	>100	B	13	B	10	B	75	A	3	B	6
B	93	A	12	B	4	B	20	A	2	A	6
B	53	B	8	B	3	A	9	B	1	B	1
B	40	B	6	A	2	A	7	A	1	B	0
B	25	A	4	B	1	A	6	B	0	B	0
A	15	B	3	B	1	B	4	B	0	B	0
A	9	A	3	A	1	B	4	B	0	B	0
A	8	A	3	A	1	A	4	B	0	B	0
A	6	B	2	A	0	A	3	A	0	A	0
A	4	A	2	A	0	A	3	A	0	A	0
A	4	A	1	A	0	A	2	A	0	A	0
A	2	A	1	A	0	A	2	A	0	A	0
A	1	A	1	A	0	B	1	A	0	A	0
A	1	A	0	A	0	A	1	A	0	A	0
A	0	A	0	A	0	A	0	A	0	A	0
A	0	A	0	A	0	A	0	A	0	A	0
A	0	A	0	A	0	A	0	A	0	A	0
A	0	A	0	A	0	A	0	A	0	A	0
A	0	A	0	A	0	A	0	A	0	A	0
A	0	A	0	A	0	A	0	A	0	A	0
A	0	A	0	A	0	A	0	A	0	A	0
A	0	A	0	A	0	A	0	A	0	A	0

Taulukko 16. Puhdas ja likainen vaihteluväli tarkoittaa kontaktimajoilla (25 cm²) olevien pesäkemäärien vaihteluväliä tutkittavassa sarjassa.

				Puhdas vaihteluväli		Likainen vaihteluväli	
	Agar	U ₁₅	U'	Min.	Max.	Min.	Max.
A-Laitos	PC	135	0	0	15	15	>100
	Baird Parker	127	8	0	12	2	45
	O.G.Y.E	133	2	0	2	0	20
C-Laitos	*PC	121	14	0	9	0	>100
	Baird Parker	121	14	0	3	0	49
	O.G.Y.E	114	21	0	10	0	11

*Esimerkki, C-laitos PC-agar U₁₅ = (A₁+A₂+A₃+.....A₁₅) = +6+6+6+8+8+8+8+8+9+9+9+9+9=112

9.3 Sytotoksisuus

Sytotoksisuuden mittaamisessa käytettiin HTD-testiä, jossa solumuutokset katsottiin kuoppalevyiltä yhden ja ohjeesta poiketen neljän vuorokauden päästä. Yhden vuorokauden altistuksessa havaittiin lievää sytotoksisuutta A-pesun tummissa työasuissa suurimmassa uute-konsentraatiossa 0,15 mg/ml. Kaikissa vaatteissa oli 4 vuorokauden kuluttua havaittavissa sytotoksisuutta (Taulukko 17) Pesukemikaalikontrolleista viimeistelyaine ei ollut toksista soluille, mutta muilla oli havaittavissa sytotoksisuutta (Taulukko 17).

Taulukko 16. HTD-arvot 4 vrk altistuksen jälkeen g/l. HTD-arvo tarkoittaa suurinta arvoa, jossa ei havaittu sytotoksisuutta, joka on esitetty lihavoituna. Jokaisesta näytteestä oli neljä rinnakkaista, joiden sytotoksisuus ei poikennut toisistaan. A, B ja C viittaavat elintarvikelaitoksiin, joista työasut on haettu.

	Pitoisuus g/l					
	0,48	0,96	1,92	3,85	7,69	15,38
A Värillinen	0	0	1	2-3	3	4
A Vaalea	0	0	0	0	2-3	3
B Värillinen	0	0	0	1	3	3-4
B Vaalea	0	0	0	0	0	0
C Värillinen	0	0	0	0	2-3	3
C Vaalea	0	0	0	0	1-2	3
Kuopat	7	8	9	10	11	12

Taulukko 17. Pesuainekemikaalikontrollien sytotoksisuus HTD-testissä pitoisuutta kohden (mg/l). Lunosepteistä laskettiin myös vapaan kloorin eli tehollisten hypokloriittianionien pitoisuus (mg/l. Suluissa olevat kirjaimet A, B ja C tarkoittavat kunkin elintarvikelaitoksen pesukemikaalia.

Lunosept	mg/l	31,25	62,50	125,00				
Kiinteä	1 vrk	0	0	1				
(C)	3 vrk	0	1	3				
Lunosept	mg/l	31,25	62,50	125,00	62,50	625,00	1250,00	2500,00
neste	1 vrk	0	1	2	2	2	4	4
(B)	3 vrk	0	1	2	4	4	4	4
Multi clax	mg/l	15,63	31,25	62,50				
free (A)	1 vrk	0	1	2-3				
	3 vrk	0	1	3				
Clax spirit	mg/l	0,31	0,63	1,25	2,50			
(A)	1 vrk	0	0	1	2-3			
	3 vrk	0	1	2	3			

10 TULOSTEN TARKASTELU

Tutkimuksen tavoitteena oli selvittää työasujen mikrobiologinen hygieniataso käyttöönotto-vaiheessa. Asuista tutkittiin kokonaisbakteerit, hiivat ja homeet, gramnegatiiviset sauvabakteerit sekä itiölliset *Bacillus*-bakteerit. *Salmonella*- ja *Listeria*-bakteerit tutkittiin kvantitatiivisella rikastusmenetelmällä. Vaatteista tehtiin myös sytotoksisuustesti HeLa-soluilla.

Salmonella- ja *Listeria*-bakteerien pesukestävydestä sekä esiintymisestä pestyissä vaatteissa ja pesulaympäristössä ei löydy aiempia tutkimuksia. Myöskään elintarvikkeiden, rehujen ja elintarviketilojen seurannassa käytettäviä rikastusviljelymenetelmiä ei ole käytetty pesula-alan tutkimuksissa.

Salmonella-bakteeria ei löytynyt yhdestäkään näytteestä, mutta tutkimusajankohdan erittäin kylmä sää saattoi aiheuttaa väärän negatiivisen tuloksen (Johansson & Hakola 2010). Kylmäaltistus voi siirtää *Salmonella*-bakteerit horrokseen, jolloin niiden kasvu estyy täysin. Näytetakit eivät täysin täyttäneet alkuperäisiä kriteerejä eli elintarviketehtaalta käyttöönottopisteestä pesusta juuri tullut käytössä oleva asu. A-laitoksen käytössä olevat takit otettiin pesulasta, B-laitoksesta saatiin näyteiksi poistotakkeja, jotka otettiin myös pesulasta. C-laitoksen ensimmäiset rikkinäiset näytteiksi otetut takit olivat olleet varastossa tuntemattoman ajan.

C-laitoksen tummasta takista löytyi *L. grayi* -bakteeria identification procent (ID%) 99,9 %, näytteenotto jouduttiin uusimaan, koska takki oli ollut varastossa pitkään ja ei ollut edustava. Toisessa otannassa löytyi API-testillä *L. welshimeri* -bakteereita juuri pesusta tulleesta värillisestä housusta. Bakteerin identification result (ID%) oli 72,6 %. ID% kertoo kuinka moni API-testin sisältävistä serologisista testeistä on osunut tutkittavan bakteerin vastaaviin serologisiin ominaisuuksiin (Paziak-Domańska ym.1999). Nykyään Api-testiä pidetään suuntaa antavana ja yleisimmin lajin varmistukseen käytetään PCR-menetelmää (Johansson & Hakola 2012). Kumpikaan löydetyistä bakteereista ei ole patogeeneja (Farber & Speirs 1987).

Listerioosia aiheuttavaa *L. monocytogenes* -bakteereita ei löytynyt. *L. welsmeri* löytyminen oli erittäin merkittävä asia, koska *Listeria sp.* -bakteerien löytyminen indikoi myös mahdollista *L. monocytogenes* -bakteerin löytymistä (Atil ym. 2011; Moharem ym. 2007). Mikäli *Listeria* on läpäissyt pesuprosessin, niin pesuprosessissa tarvitaan pääpesuvaiheen desinfektio myös patogeenien eliminoimiseksi eikä pelkästään erittäin likaisen pyykin desinfioimiseksi (Fijan ym. 2007). Toisaalta tulos ei ollut yllätys, koska värillisten työasujen ei tarvitse olla steriilejä. Värilliset asut pestään +40–60 °C lämpötilassa. Vaikka asut kuivataan lähellä +100 °C:tta, niin vaatteet voivat olla siinä vaiheessa niin kuivia, ettei lämpö tuhoa *Listeria*-bakteereita. *Listeria*-bakteereita on löytynyt aiemmin suomalaisen elintarviketeollisuuden käytössä olevista työasuista kontaktimaljoilla otetuista näytteistä (Aarnisalo ym. 2006). *L. monocytogenes* -bakteereita ei ole löytynyt.

Kontaktimaljoilla tehtävä tutkimus jaettiin pilotointiin ja monitorointiin. Pilotoinnissa tutkittiin vaaleiden asujen lisäksi myös värilliset työasut. Värillisten asujen bakteerit tutkittiin pelkästään B-laitoksen maljoilta, koska ne edustivat ulkonäöllisesti pesäkemorfologialtaan muita laitoksia. Maljoilla kasvoi myös pesäkemorfologialtaan erikoisia bakteereita, muun muassa paistetun kananmunan mallisena epäsäännöllisenä pesäkkeenä.

Pilotoinnissa ja monitoroinnissa työasuista otetuilla kontaktimaljoilla kasvoi pääasiassa aerobisia grampositiivisia katalaasipositiivisia kokkibakteereita. Tämän lisäksi näytteistä löytyi yksittäisiä grampositiivisia sauvoja, ovaaleja sauvoja ja gramnegatiivisia bakteereita. Tulokset ovat samansuuntaisia kuin Fijan (2006a; 2008) tutkimusryhmillä, joka osoitti, joka osoitti, että bioindikaattoritestiä käyttävän pesulan pyykissä oli *S. aureus*, *Micrococcus*-, *Corynebacterium*-, *Bacillus*- ja *Enterococcus*-bakteereita. Todennäköisesti tässä pro gradu -tutkielmassa tutkitut bakteerit olivat samoja bakteereita kuin Fijan (2008) ryhmän löytämät. Mahdollisia *Enterococcus*- ja maitohappobakteereja ei löytynyt, koska katalaasinegatiivisia lajeja ei löytynyt. Bakteeritunnistukset olivat puutteellisia ja *Bacillus*- ja *Corynebacterium*-bakteereita lukuun ottamatta bakteerilajeista ei voitu sanoa tarkasti, mitä lajia ne olivat. Tarkempi lajitunnistus olisi vaatinut suuremman joukon erilaisia selektiivisiä menetelmiä. Kontaktimaljoilla kasvoi yksittäisiä gramnegatiivisia bakteereita. Muista laitoksista poiketen C-laitoksessa gramnegatiivisten bakteerien osuus saattoi olla muita laitoksia suurempi. Lakdawala (2011) tutkimusryhmineen havaitsi, että pestyissä märissä työasuissa oli pieni määrä gram-negatiivisia bakteereita, jotka poistuivat kuivauksessa.

Mikrobit luokiteltiin pesäkemorfologian perusteella ryhmiksi ja jokaisen ryhmän yksi pesäke puhdasviljeltiin. Yhtä keltaista mattaa pesäketyyppiä lukuun ottamatta pesäkemorfologia ei ollut luotettava tunnistuskeino. Tämän vuoksi gramvärjätty näyte ei edusta morfologisesti samanlaista bakteeriryhmää. Tämän vuoksi morfologialtaan samanlaisista pesäkkeistä olisi puhdasviljeltävä 2–3 kpl.

Pääosa likaisen pyykin bakteereista olivat gram- ja katalaasiposiitivisia lajeja, mutta pesäkemorfologian perusteella mikrobilajisto oli laajempi kuin puhtaissa asuissa. Puhtaista ja likaisista vaatteista kerättiin kuusi grampositiivisista sauvabakteerinäytettä, jotka itiövärjäyksessä osoittautuivat *Bacillus*-bakteeriksi. Osa bakteereista oli verisoluja hajottavia β -hemolyyttisiä kantoja (Madigan ym. 2000). Hemolyyttisyys on tyypillinen ominaisuus taudinaiheuttajille. VRBG-alustalla A-laitoksen likaisista asuista otetuilla maljoilla kasvoi pesäkemorfologialtaan kurttuaisia pesäkkeitä ja C-laitoksella kiiltäviä kostean tyyppisiä pesäkkeitä. Bakteerit olivat gramnegatiivisia sauvoja.

Puhtaiden työasujen bakteerien määrän arvioinnissa käytettiin RAL-GZ 992/3 -laadunvarmistusstandardin 50 pmy/dm^2 rajaa kokonaisbakteereille (Kurz 2012). Pilotoinnissa kokonaisbakteerien määrä ylitti hyväksytyn rajan A-laitoksen vaaleissa työasuissa. Värillisissä asuissa kokonaisbakteerien raja ylittyi A- ja C-laitoksen kontaktimaljoilla.

Monitorointivaiheen tulokset ovat pilotointia luotettavampia parempien maljojen ja näytteenotto-tekniikan ansiosta. Vaaleiden työasujen kokonaisbakteeripitoisuudet alittivat 50 pmy/dm^2 rajan lukuun ottamatta A-laitoksen kolmannen monitorointikierroksen yhtä asua. Yksi verimaljoista oli $\frac{1}{4}$ alueelta ylikasvanut. Tämän kaltainen yksittäinen poikkeama saattaa johtua esimerkiksi työasujen käsittelystä likaisilla käsillä. B-laitoksen vaaleiden asujen mikrobihiheydet alittivat terveydenhuollon RAL-GZ 992/2-laadunvarmistusstandardin 20 pmy/dm^2 raja-arvon värillisiä työasuja lukuun ottamatta. Mikrobeille ei löytynyt lajitaisoisia raja-arvoja, koliformeja lukuun ottamatta, joita ei saanut löytyä (Fijan ym. 2008). Tulosten keskihajonta oli erittäin suuri, kuten oli myös Aarnisalonen (2006) tutkimusryhmällä. Suuri hajonta johtuu todennäköisesti satunnaistekijöistä, kuten kontakteista ja raaka-ainekontakteista, esimerkiksi roiskeista.

A- ja C-laitosten pyynnöstä vaaleista likaisista vaatteista otettiin näytteet, mutta B-laitoksesta ei. Kyseisten laitosten elintarvikeprosessit olivat B-laitosta huomattavasti likaisempia. Tulosten perusteella erityisesti A-laitoksen asut olivat huomattavasti C-laitosta likaisempia ja useat kontaktinäytteet olivat ylikasvaneita. Työasujen puhdistumaa tutkittiin U-testillä, jossa pieni U' -arvo verrattuna U_{15} -arvoon tarkoittaa hyvää puhdistumaa. Tulosten perusteella A-laitoksen pesuprosessi puhdisti pyykkiä erittäin tehokkaasti. Baird Parker -agarilta saatujen tulosten perusteella A-laitoksen pesuprosessi toimi C-laitosta paremmin lämpöä kestäviin *Staphylococcus*-bakteereihin. C-laitoksella pyykin puhdistuman tulosten tulkintaa häiritsivät likaisten vaatteiden matalat mikrobitasot, jotka täyttäisivät puhtaan tekstiilin kriteerit. Muita korkeampi likaisuus saattaa olla myös eräs seikka, joka selittää A-laitoksen puhtaissa työasuissa muita korkeammat bakteeripitoisuudet.

Pestyjen työasujen sytotoksisuudesta ei löytynyt aiempia tutkimuksia. Kuitenkin Klemola (2008) on esittänyt kankaiden väriaineita tutkiessa arvion, että pesty pyykki ei ole todennäköisesti sytotoksista. Saadut tulokset kumosivat arvion ja B-pesun valkeaa asua lukuun ottamatta kaikki tekstiilit olivat sytotoksisia. A- ja C-pesujen valkeat asut olivat kutakuinkin yhtä toksisia. Värillistä asuista kaikkein sytotoksisin oli A-pesun takki, toiseksi B-pesun takki, ja C-pesun housu vähiten sytotoksinen. Värillisten asujen sytotoksisuus voi liittyä värin irtoamiseen, koska A-pesun farkkutakki oli uusin ja C-pesun housu oli vanhin sekä kulunein. B-tehtaan takki oli laadultaan näiden välistä.

Bisoft eco blue -huuhteluainetta lukuun ottamatta kaikki kemikaalit olivat sytotoksisia selvästi pesupitoisuuksia pienemmissä pitoisuuksissa. Kaikkein sytotoksisin oli Clax Spirit -entsyymivalmiste, jonka pitää laimeta tai hajota 1:6422 pesupitoisuudesta ennen kuin sytotoksisuus häviää 4 vrk altistuksessa. Muilla tutkituilla aineilla vaadittiin 1:107–1:147 laimentuminen tai inaktivoituminen pesupitoisuudesta 4-vuorokauden altistuksen jälkeen. Tulokset viittaavat vahvasti, että pesuainejäämät ovat todennäköisesti tekstiilien sytotoksisuuden syy. Työssä jouduttiin käyttämään ihosolujen sijasta kohdunkaulansyöpäsoluja. Eri solutyypeillä on erilainen kyky käsitellä toksineja, esimerkiksi maksasolut ovat erikoistuneet toksisten aineiden hajottamiseen ja inaktivoimiseen. HeLa-solut eivät ole yhtä hyvä solumalli kuvastamaan ihoa kuin ihon omat solut (Aparicio-Fernández ym. 2006).

11 POHDINTA

Tarvittava lisätutkimustarve riippuu pesuaine-, elintarvike- tai pesulayritysten jäljellä olevasta tietotaitotarpeesta. Mahdollisia täydennystarpeita löytyy mikrobiologisesta tutkimuksesta, jossa kontaktinäyttemäärä jäi puolta pienemmäksi kuin RAL-GZ 992/3 -laadunvarmistusstandardissa vaaditaan. Käytetyissä tutkimusmenetelmissä oli muutamia ongelmia: Verimaljojen itiöllisten bakteerien lämpöselektio ei ollut riittävä, ja likaisista vaatteista otetut kontaktimaljat kasvoivat yli.

Puhtaista vaatteista verimaljoille otetut *Bacillus*-bakteerit olivat erotettavissa muista bakteereista erilaisen pesäkemorfologian perusteella, mutta eivät likaisista asuista maljojen ylikasvun vuoksi. Maljat olisi voinut käsitellä Eviran Johansson & Myllys (2006) ohjeen mukaisesti +80 °C:ssa, mutta tällöinkään selektion toimivuutta ei voida tietää etukäteen menetelmien erilaisuuden vuoksi. Tutkimuksen pääpaino oli puhtaiden asujen tutkimuksessa, joten kyseinen asia ei ollut kovinkaan merkittävä.

Kontaktimaljoilta pystytään luotettavasti laskemaan 100 pmy/25 cm², joten käytetty menetelmä ei sovi likaisten työasujen mikrobien tarkan lukumäärän määrittämiseen. Mikrobit olisi parempi siirtää nesteeseen ja sitä kautta maljoille. Laimennossarjoja käyttämällä tarkat mikrobimäärät saataisiin selville (Nicholsson 1970). Kyseinen menetelmä on ehdoton muun muassa pesutehotutkimuksessa. Menetelmän etuna on, että saatu liuos on helpompi lämpökäsitellä *Bacillus*-bakteerien itiöselektiotutkimusta varten. Elintarviketeollisuuden normaaliflooran pesutehotutkimus olisi erittäin tarpeellinen, eikä siitä löydy tutkimustietoa.

Pesula-alalla ei ole bakteeriryhmille hyvän ja huonon raja-arvoja koliformeja lukuun ottamatta, joita ei saisi olla (Fijan, ym. 2008). *E. coli* -bakteerit voisi kontaktimaljamenetelmän sijasta selvittää rikastusviljelyllä ja tarvittaessa serotyypittää löydökset. On mahdollista, että esimerkiksi *Bacillus*-bakteerien sekä homeiden ja hiivojen määrille tuotantotiloissa voi löytyä raja-arvoja. Tietyille patogeeneille voi olla yrityskohtaisia raja-arvoja eli niitä ei saisi tuotantotiloista löytyä, joten oikeastaan niitä ei saisi löytyä myöskään puhtaista työasuista. Näitä bakteereita tulisi tutkia laajemmin ja ulottaa tutkimus koskemaan tarvittaessa myös pesulatiloihin.

Pro-gradu -tutkimuksessa käytössä ollut kontaktimenetelmä on paras menetelmä puhtaiden tekstiilien tutkimisessa. Tekstiilin pinnasta kontaktimaljoille tarttuvat bakteerit ovat samoja, jotka siirtyvät kontaktissa herkimmin myös elintarvikkeisiin. Vaikka RAL-GZ 992/3-laadunvarmistusstandardin 50 pmy/dm² raja-arvo ei kuvasta tekstiilin todellista mikrobimäärää (Nicholson 1970). Työasut voidaan rinnastaa elintarvikkeiden käsittelypintoihin, niin se on parhaiten yhdistettävissä elintarvikekäsittelypintojen hyvän 100–200 pmy/dm² raja-arvoon (Rahkio ym. 2006; Määttä 2012). Kokonaisbakteerien osalta pesulastandardi on erittäin tiukka. Vaikka tuloksissa oli joitakin ylityksiä yhden toimijan osalta, ne eivät olleet katastrofaalisia, jos ylitykset suhteutetaan välttävään pintahygieniaraja-arvoon, joka vaihtelee elintarvikesektoreittain >500–1000 pmy/dm² välillä (Rahkio ym. 2006). Pro gradu -tutkimus tehtiin talviseen aikaan, joten kesäajan mikrobikuorman vaikutusta lopulliseen työasuhygieniaan käyttövaiheessa ei tunneta.

Pestyjen tekstiilien sytotoksisuuden tutkiminen vaatisi pesuainetoimittajien mukanaoloa. Pestyt tekstiilit ovat kemiallisen omavalvonnan ansiosta turvallisia, vaikka tutkimuksessa huomattiin sytotoksisuutta. Tekstiilien sytotoksisuus voi selittää tiettyjen ihmisten herkkyyden pestyille pyykeille. Sytotoksisuustutkimuksia voisi käyttää pesulateollisuudessa muun muassa allergiavapaan pesun kehittyessä ja huuhteluiden optimoinnissa. Myös pienten vauvojen tekstiilien pesuainejäämiin tulisi kiinnittää vastaavanlaista huomiota kuin vauvanruokien lisäaine- tai kemikaalijäämiin (Euroopan Komissio, 2006/125/EY). Eräs merkittävimmistä kehityshankkeista voisi olla sytotoksisuustutkimusten käyttö kemianteollisuuden työasujen turvallisuuden kehittämisessä. Kotipyykkiaineet sisältävät noin 20 erilaista raaka-ainetta ja entsyymiä (Teknokemian yhdistys 2006). Tämän pro gradu työn tulosten perusteella erityisesti entsyymipitoiset pesuaineet olivat sytotoksisempia kuin perinteiset. Pesulateollisuus saisi kilpailukykyä, jos osoitettaisiin, että pesulassa pestyt vaatteet ovat vähemmän sytotoksisia kuin kotona pestyt. Vaikka entsyymipohjaiset aineet osoittautuivat perinteisempiä toksisemmiksi, niin niistä on myös hyötyä. Niillä saadaan vähennettyä vedenkäyttöä ja valkaisu onnistuu neutraaleissa olosuhteissa (Vähä-Vahe 2010).

Pesulakemikaalien valmistajat eivät tunne kunnolla omien tuotteidensa toksisuutta, muun muassa DiverseysLeverin Clax Spirit -pääpesuaineen käyttöturvallisuustiedotteen (2005) perusteella ei olla varmoja, onko pesuaine ihoa ärsyttävää normaalikäytössä. Tulokset osoittivat pesuaineen olevan käyttöpitoisuudessa huikean sytotoksista ja myös pesty pyykki oli sytotoksista, joten on todennäköistä, että pesuaineella on jonkinlainen vaikutus ihoon.

Pesuloissa ja tekstiileissä on runsaasti tutkittavaa. Osa tutkimuksista on vanhentunut pesulateknologian, tutkimusmenetelmien ja kemikaalien kehittymisen myötä. Elintarviketeollisuuden työasututkimusta pitäisi tehdä samalla tavalla kuin terveyssektorin eli yhdessä pesulateollisuuden kanssa, jolloin laatua ja yhteistyötä saisi kehitettyä. Nykyinen pesulaprosessi valikoi korkeita lämpötiloja sietäviä grampositiivisia bakteereita. Mikäli energian hinnan nousun vuoksi siirrytään matalalämpöpesuun, gramnegatiiviset bakteerit voivat hyötyä paremman kemikaalikestävyyden takia. Pesuloiden tulevaisuuden haasteet liittyvät gramnegatiivisten pesukemikaaleja sietävien ja multiantibioottiresistenssien ”Super” -bakteerien hallintaan, joiden hävittäminen sairaala- tai elintarvikeympäristöstä on mahdotonta (Wirtanen & Salo 2004; Jalava ym. 2010). Kyseessä ovat Extended β -lactamase (ESBL)-entsyymiä sisältävät suolistobakteerit. Viime vuosina erilaisten sairaalabakteerien, joihin ei löydy tehokasta hoitoa, aiheuttamat infektiot ovat lisääntyneet myös Suomessa.

Mukana olevilla elintarvikealan yrityksillä oli seuraavia asioita ja kysymyksiä, joihin he halusivat vastauksia. A-laitokselta haluttiin tietää heidän käyttämänsä pesulaprosessin mikrobiologisista vaaroista ja saada samalla tietämystä pesuloiden auditoinneista. B-laitokselta haluttiin tietää mahdollisimman tarkasti pesuprosessin kulku ja mahdolliset pyykin kontaminaatiolähteet. *Listeria*-bakteerin ja homeitiöiden pesukestävyys haluttiin tietää joko kirjallisuuden tai tutkimuksen kautta. C-laitokselta haluttiin tietää, mitä hyötyä saavutetaan teollisessa pyykinpesussa verrattuna omaan pesuun ja onko pesuloiden mikrobiologinen laatu parempi. Tämän lisäksi jokainen yritys halusi tietää, miten hyvä heidän työasujensa mikrobiologinen laatu on verrattuna kansainvälisiin standardeihin ja onko vientimaihin tulossa mahdollisia pesulateollisuuden standardeja, jotka voisivat vaikuttaa elintarvikelaitosten auditointiin.

Vaikka pesuindikaattoreina käytetään *Staphylococcus*- ja *Enterococcus*-bakteerien patogeenisia kantoja, niin elintarviketeollisuudella olisi kiinnostusta myös muiden mikrobien pesukestävyyden tutkimiseen. Pesukestävyys tulisi tutkia homeitiöistä, *Salmonella sp.*- ja *L. monocytogenes*- sekä lämpökestävistä *E. coli* -bakteereista. Todennäköisesti lähiaikoina saadaan lisää tietoa itiöllisten *Bacillus spp.* -bakteerien pesukestävyydestä (Fijan ym. 2007). Saatua tietoa voidaan hyödyntää myös *C. botulinum*- ja *C. perfringens* -bakteereihin sekä *C. difficile* -sairaalabakteeriin. Pyykin anaerobisista bakteereista ei löytynyt tutkimuksia, joten tältä osalta tutkimukset ovat puutteellisia.

Kysymykseen, kannattaako tekstiilipalvelu ostaa, ei ole suoraa vastausta. Toiminnan kannalta ISO EN 14065-sertifioidun pesulan käyttö lisää asiakasluottamusta. Elintarviketeollisuuden Venäjän vientivaatimukset ovat vaikuttaneet siihen, että muun muassa puhdaspalveluketjuun kuuluvat pesulat ovat sertifioituja. Tulevaisuudessa myös Yhdysvaltojen TRSA:n (2012) sertifikaatit voivat vaikuttaa vientiyritysten työasuhygieniasoihin. Tekstiilihuollon ostamisen hyötyjä ovat: Pesulaprosessi on ympäristöystävällisempi kuin itse pesty tekstiili, käyttöönotettavien tekstiilien elinkaari selvitetään, ulkoistaminen helpottaa työtä ja pesulateollisuudella on työkalut hallita tekstiilien käyttöturvallisuutta sekä pesun mikrobiologiaa (ETSA 2004). Hygieniassa ja sen mittaamisessa on vielä kehitettävää (Rusanen 2008). Nämä puoltavat tekstiilihankinnan ulkoistamista, koska teollinen pesu pyritään mahdollisimman tarkasti optimoimaan, jolloin kemikaaleja ja energiaa säästyy (Fijan ym. 2008). Pesuloiden kuljetusketjut kulkevat lähes jokaisella paikkakunnalla. Kuljetuksen ympäristökuormitus voi jopa alentua, kun autot saadaan täydemmiksi. Pesulat ovat mikrobiologisesti monien alojen risteyskohdissa ja ainakin teoriassa on mahdollista, että esimerkiksi jokin sairaalabakteeri pääsee leviämään elintarviketeollisuuteen. Joskus on mahdollista, että ulkoistettu tekstiilihuolto ei sovi elintarvikeyritykselle.

Pesula-alalla on havaittavissa elintarviketeollisuuden kaltaista keskittymistä, pyykkiä ajetaan pitkiä matkoja ympäri Suomea ja suomalaista terveydenhuoltosektorin pyykkiä pesetetään virolaisissa pesuloissa, joilta puuttuu ISO EN 14065 -laatujärjestelmä. Osittain kilpailu on epätervettä (Pöntinen 2011). Fijan (2008) tutkimusryhmän tuloksista voi päätellä, että bioindikaattoritestiä käyttävissä pesuloissa on parempi tekstiilien ja tilojen hygienia. Pesulan sertifioinnissa pesulan laatujärjestelmä käydään elintarvikelaitoksen HACCP-järjestelmän rakentamisen tavoin läpi. Tällä tavoin prosessin hygienia-asiat tulee käytyä läpi, mikä on hygienian parantamisen edellytys. Samalla sairaalabakteerien leviämiskas alenee.

Se, että pesulateollisuus on menettänyt markkinaosuuttaan sertifioimattomille virolaisille pesuloille, johtuu hinnasta ja siitä, ettei suomalainen pesulateollisuus ole kyennyt tuotteistamaan parempaa laatuaan ja tekstiilihygieniansa. Elintarviketeollisuuden lisäksi terveydenhuoltosektorilta puuttuu tietämystä tekstiilihygieniasta ja sen merkitys on aliarvioitu erityisesti erityisryhmien, kuten pienten vauvojen tai syöpäpotilaiden, osalta. Pesuloiden sitoutuminen esimerkiksi RAL GZ 992/2 raja-arvoihin voisi parantaa myös asiakkaiden ymmärrystä pesulahygieniaa kohtaan. Hyvän tekstiilihygienian merkitys korostuu vakavien epidemioiden yllättäessä tulevaisuudessa. Tähän asiaan pitäisi varautua myös elintarviketeollisuudessa.

Suomalaisten Virosta saamaa tekstiilihuoltokokemusta voidaan hyödyntää myös suomalaisten serti-
fioimattomien pesuloiden sopimusehtojen laatimisessa (Hyvönen & Pöntinen 2008). Sopimuksessa
määriteltyjen raja-arvojen toteutuminen ja prosessintoimintahäiriöt on korjaustoimenpiteiden lisäksi
dokumentoitava. Yhteistyön pitää olla tiivistä ja asiakkaan pitäisi validoida pyykinhuoltoprosessi
määräajoin.

LÄHTEET

- Aarnisalo K, Tallavaara K, Wirtanen G, Maijala R & Raaska L, 2006. The hygienic working practices of maintenance personnel and equipment hygiene in the Finnish food industry, Food Control 17:12.
- Ahjoniemi J, 2011. Suullinen tiedoksianto. 2.9.2011.
- Ahvenainen-Rantala R, 2005. Pakkaustekniikat. Teoksessa: Saarela A-M, Määttä S, Hyvönen P & von Wright A (toim.), Elintarvikkeprosessit. 2. Painos. 239–252. 348 s. Tampereen Yliopistopaino Oy Juvenes Print, Tampere.
- Ahvenainen-Rantala R, 2004. Uotilan leipomo satsasi puhdistustekniikkaan. Kehittyvä elintarvike - lehti 2.2004.
- American Laundry News, 2012. Global Textile Service Association is Born. Verkkodokumentti. Saatavilla: www.americanlaundrynews.com/article/global-textile-services-organization-born. Viitattu 9.4.2012.
- Aparicio-Fernández X, García-Gasca T, Yousef G.G, Lila M.A, González de Mejía E & Loarca-Pina G, 2006. Chemopreventive Activity of Polyphenolics from Black Jamapa Bean (*Phaseolus vulgaris* L.) on HeLa and HaCaT Cells. J. Agric. Food. Chem. 54:6.
- Arnold A, M.D, F.A.L.P.A, 1938, A Sanitary Study of Commercial Laundry Practice. Am J Public Health Nations Health. 28:7.
- Atil E, Ertas H.B & Ozbey G. 2011, Isolation and molecular characterization of *Listeria* spp. from animals, food and environmental samples. Vet Med 56:8.
- Barrier D, Hoffman P.N, Wilson J.A & Kramer J.M, 1994. Contamination of hospital linen by *Bacillus cereus*. Epidemiol Infect 27:219–235.
- Björkroth J. 2007. Mikrobien kasvuun elintarvikkeissa vaikuttavat tekijät. Teoksessa: Korkeala H. Elintarvikehygieniä. 1. Painos. 17–22. 497 s. WSOY Oppimateriaalit O, Helsinki.
- Blaser M, Smith P, Wang W-L & La Force F. 1984. Killing of Fabric-Associated Bacteria in Hospital Laundry by Low-Temperature Washing. J. Infect Dis. 149:1.
- Borg M.A & Portelli A, 1999. Hospital laundry workers—an at-risk group for *hepatitis* A. Abstract. Occup Med (Lond). 49:7.
- Borenfreund E & Puerner J.A, 1984. A simple quantitative procedure using monolayer cultures for cytotoxicity assay (HTD/NR-90). J Tissue Cult Methods 9:1.
- Brunton W.A, 1995. Infection and hospital Laundry. Lancet 345:1574.

- Buschini A, Carboni P, Furlini M, Poli P & Rossi C, 2004. Sodium hypochlorite-, chlorine dioxide- and peracetic acid-induced genotoxicity detected by the Comet assay and *Saccharomyces cerevisiae* D7 tests. *Mutagenesis* 19:2.
- Challa L. 2012. Impact of Textiles And Clothing Industry On Environment: Approach Towards Eco-Friendly Textiles. Verkkodokumentti. Saatavilla: www.fibre2fashion.com/industry-article/textile-industry-articles/impact-of-textiles-and-clothing-industry-on-environment/impact-of-textiles-and-clothing-industry-on-environment1.asp, Viitattu 5.6.2012.
- Christian R.R, Manchester J.T & Mellor M.T, 1983. Bacteriological Quality of Fabrics Washed at Lower-Than- Standard Temperatures in a Hospital Laundry Facility, *Appl. Environ. Microbiol.* 45:2.
- Christeys, 2012. Verkkodokumentti. Päivitetty. Saatavilla: www.christeys.com/total-concepts.aspx, Viitattu 3.6.2012.
- Christeys Nordic Oy Ab, 2010. Pesuohjelma 11. Valkea työasu 75 D-. Moniste 2 s. Karjalan Tekstiilipalvelu Oy, Joensuu.
- Cooke V.M, Miles R.J, Price R.G & Richardson A.C, 1999; A Novel Chromogenic Ester Agar Medium for Detection of *Salmonellae*. *Appl. Environ. Microbiol.* 65:2.
- de Moreno de LeBlanch A, LeBlanc J.G, Perdigon G, Miyoshi A, Langella P, Azevedo V & Sesma F, 2008. Oral administration of a catalase-producing *Lactococcus lactis* can prevent a chemically induced colon in mice. *J Med Microbiol.* 57:1.
- El-Sherif A.M & Elmoallami M.K, 1998. Rambach agar as a new plate differential medium for the identification of some enteric pathogens in meat products. *Z Lebens Unters Forsch A* 207:160-163.
- Eskes C, Detappe V, Koeter J. Kreusa J, Liebsch M, Zuang V, Amcoff P, Barroso J, Cotovio J, Guest R, Hermann M, Hoffmann M, Masson P, Alépée N, Arce L.A, Brüschweiler B, Catone T, Cihak R, Clouzeau J, D'Abrosca F, Delveaux C, Derouette J.P, Engelking O, Facchini D, Fröhlicher M, Hofmann M, Hopf N, Molinari J, Oberli A, Ott M, Peter R, Sá-Rocha V.M, Schenk D, Tomicic C, Vanparys P, Verdon B, Wallenhorst T, Winkler G.C & Depallens O, 2012. Regulatory assesment of in vitro skin corrosion and irritation data European framework: Workshop recommendations. *Regul Toxicol Pharmacol* 62:2.
- Etelä-Pohjanmaan sairaanhoitopiiri. 2010. Tartuntavaarallinen pyykki. Moniste 1 s. Seinäjoen keskussairaala, Etelä-pohjamaan sairaanhoitopiiri, Seinäjoki.
- ETSA, 2004. Textile Rental Service. Verkkodokumentti. Saatavilla: <http://www.etsa-europe.org/homefs.htm>, Viitattu 19.5.2012

- Evira 2008, Tehostettu Listeriavalvonta. Moniste 4 s. Valvontaosasto, Hygieniaosasto. Evira, Helsinki.
- Evira, 2011. Kasvisten mikrobiologinen turvallisuus. Verkkodokumentti. Päivitetty 10.06.2011. Saatavilla:
www.evira.fi/portal/fi/elintarvikkeet/valmistus_ja_myynti/kasvikset/mikrobiologinen_turvallisuus, Viitattu 11.6.2012.
- Evira, 2012a. Elintarvikkeiden ja rehujen mikrobiologisten tutkimusten toiminta- ja menetelmäohjeita sekä lihintarkastuksessa käytettäviä menetelmäohjeita. Verkkodokumentti. Päivitetty 18.04.2012. Saatavilla:
www.evira.fi/portal/fi/evira/esittely/toiminta/laboratoriotoiminta/vertailulaboratoriotoiminta/ohjeita_laboratorioille/menetelma_ja_toimintaohjeet, Viitattu 26.4.2012.
- Evira 2012b. Elintarvikkeiden säilyttäminen. Verkkodokumentti. Päivitetty 22.5.2012. Saatavilla:
www.evira.fi/portal/fi/elintarvikkeet/hygieniaosaaminen/tietopaketti/elintarvikkeiden_hygieninen_kasittely/elintarvikkeiden_sailyttaminen/, Viitattu 19.5.2012.
- Evira 2012c. Henkilökohtainen hygienia. Verkkodokumentti. Päivitetty 1.6.2012. Saatavilla:
www.evira.fi/portal/fi/elintarvikkeet/hygieniaosaaminen/tietopaketti/henkilokohtainen_hygienia/, Viitattu 2.6.2012.
- Euroopan komissio, 2005. Komission asetus (EY) elintarvikkeiden mikrobiologista vaatimuksista Päätös EY 2073/2005. Euroopan unionin virallinen lehti 22.12.2005.
- Euroopan komissio, 2006. Imeväisille ja pikkulapsille tarkoitetuista ruoista ja erityisiin lääkekäyttöön tarkoitettuihin tarkoitetuista ruokavaliovalmisteista. Komission direktiivi 2006/125/EY Euroopan unionin virallinen lehti 6.12.2006.
- Facklam R.R. 1974. Presumptive Identification of Group A, B and D *Streptococci*. Appl Microbiol. 27:1.
- Facklam R & Elliott J. A. 1995. Identification, classification, and clinical relevance of catalase negative, gram-positive cocci, excluding the streptococci and enterococci. J Clin. Microbiol. Rev. 8:4.
- Farber J.M & Speirs J.I, 1987. Potential Use of Continuous Cell Lines To Distinguish between Pathogenic and Nonpathogenic *Listeria* spp. J Clin Microbiol 25:8.
- Fijan S, Šostar-Turk S & Censis, A, 2005. Implementing hygiene monitoring systems in hospital laundries in order to reduce microbial contamination of hospital textiles. J Hosp Infect 61:1.
- Fijan S, Censis A & Šostar-Turk S, 2006a. Hygiene monitoring of textiles used in the food industry. Braz. J. Microbiol. 37:3.

- Fijan S, Poljšak-Prijatelj M, Steyer A, Koren S, Cencič A & Šostar-Turk S, 2006b. Rotaviral RNA found in wastewaters from hospital laundry. *Int. J. Hyg. Environ. -Health*. 209:97-102.
- Fijan S, Koren S, Cencič A & Šostar-Turk S, 2007. Antimicrobial disinfection effect of a laundering procedure for hospital textiles against various indicator bacteria and fungi using different substrates for simulating human excrements. *Diagn. Microbial. Infect. Dis.* 53:3.
- Fijan S, Gunnarsen J, Weinreich J & Šotar-Turk S, 2008. Determining the Hygiene of Laundering Industrial Textiles in Slovenia, Norway and Denmark. *Tekstil* 57:3.
- Gellert G.A, Waterman S.H, Ewert D, Oshiro L, Giles M.P, Monroe S.S, Gorelkin L & Glass R.I, 1990. An outbreak of acute gastroenteritis caused by a small round structured virus in a geriatric convalescent facility. *Infect. Control Hosp. Epidemiol.*, 11:9.
- Gerhardts A, Mucha H & Höfer D, 1998. Testing Linen Disinfection Procedures in Practice with Phage-Charged Bioindicator. *Int J Health Care Qual Assur* 25:6.
- Gerhards A, Wilderer C, Mucha H & Höfer D, 2009. Testing of disinfecting laundry processes against viruses via application of bioindicator and the surrogate virus MS2 Part1: Low-temperature laundry. *Hygiene & Medizin* 2009 39:7/8.
- Gonzaga A.J, Mortimer E.A & Wolinsky E, 1964. Transmission of staphylococci by fomites. *Nurs Res* 14:2.
- Haapala S, 2010. Lisäainestrategia vai täysi nollalinja. *Kehittyvä elintarvike – Lehti* 2/2010.
- Hatch K.L, 1984. Chemicals and textiles, Part 1. Dermatological problems related to fiber content and dyes. *Textile Res J* 54:10.
- Harrison J.W & Hand R.E, The effect of dilution and organic matter on the antibacterial property of 5,25 % sodium hypokloride. *J Endod* 7:3.
- Heikinheimo A, Kuusi M, Myllys V, Pietola K, Tuominen P, Valkonen J & Korkeala H, 2010. Tulevaisuuden tutkimustarpeet elintarviketurvallisuusriskien hallitsemiseksi. Verkkodokumentti. Saatavilla: www.minedu.fi/export/sites/default/OPM/Tiede/setu/liitteet/Setu_2-2010.pdf, Viitattu 7.11.2011.
- Hidalgo E, Bartolome R & Domingues C, 2001. Cytotoxicity mechanism of sodium hypokloride in human dermal fibroblast and its bactericidal effectiveness. *Chem-Biol. Interact.* 139:3.
- HUS, 2004. Pesulassa pöpöt ovat tarkassa valvonnassa. Verkkodokumentti. Päivitetty 22.12.2004. Saatavilla: www.hus.fi/default.asp?path=1:46;14828;14829;7967;7497;7498;7578, Viitattu 31.6.2012.
- Hyvönen A-K & Pöntinen P 2008. Pyykin pitkä matka. *Suomen kuvalehti* (17): 3 Helsinki

- Iltasola T, 2010. CIP-säiliöpesujen optimointi. Opinnäytetyö 60 s. Turun Ammattikorkeakoulu, Turku.
- Jalava J, Vaara M, Kirveskari J, Rissanen A-M, Österblad M & Hakanen A, 2010. Suositus karbapenemaaseja tuottavien gramnegatiivisten sauvabakteerien laboratoriodiagnostiikasta ja kantajuusseulonnasta. Kansallinen suositus. Moniste 15. THL, Mikrobi resistenssiyksikkö, Turku.
- Jay J.M, Loessner M.J & Golden D.A, 2005. Modern food microbiology. 7. Painos. 790 s. Springer Science + Busines Media Inc, USA.
- Johansson T, Hakola S & Myllyniemi A-L, 2012. *Listeria monocytogenes* -bakteerin osoittaminen ja tunnistaminen. Moniste 9s. Elintarvike- ja rehumikrobiologia, Evira, Helsinki.
- Johansson T, Hakola S & Myllyniemi A-L, 2010. Salmonella. Osoittaminen elintarvikkeista, rehuista, orgaanisista lannoitevalmisteista ja biologisista torjunta-aineista. Moniste 16s. Elintarvike ja rehumikrobiologia, Evira, Helsinki.
- Johansson T & Mylly V, 2006. Alustavan *Bacillus cereus* -bakteerin tai itiöiden määrittäminen. Pesäkelaskentatekniikka. Moniste 5s. Mikrobiologian tutkimusyksikkö, Evira, Helsinki.
- JohnsonDiverseys, 2003. Clax Spirit-Tensidejä ja entsyymejä sisältävä pesutehostintiiiviste - Tuotelehti. Moniste 2 s. JohnsonDiversey (FIN), Turku.
- Järholm B, 2000. Natural organic fi bers-health effects. Int Arch Occup Environ Health 73: S69-74
- Kannegiesser, 2012 Tunnel Finisher. Verkkodokumentti. Saatavilla: www.kannegiesser.de/en/products/c/1/a/2/cat/tunnel-finisher/prd/tunnel-finisher.html, Viitattu 19.5.2012.
- Karppinen M, 2009. Elintarviketeollisuuden ensi vuodesta entistäkin haasteellisempi. Verkkodokumentti. Päivitetty 25.11.2009. Saatavilla: www.etl.fi/www/fi/?we_objectID=390, Viitattu 1.6.2012.
- Kinnunen K, Honkalampi-Hämäläinen U & Venäläinen R, 2002. Työohje:HeLa-solujen kasvatus. Moniste 2 s. Soveltavan biotekniikan instituutti/reb. Itä-Suomen yliopisto. Kuopio.
- Kirby W.M.M, Corporon D.O & Tanner D.C, 1956. Urinary tract infections caused by antibiotic-resistant coliform bacteria JAMA 162:(1-4).
- Kivimäki S, 2001. Vesipesulan toiminta. 2 Painos, 95 s. Gummerus kirjapaino Oy, Jyväskylä.
- Klemola K, 2008. Cytotoxicity and Spermatozoa Motility Inhibition Resulting from Reactive Dyes and Dyed Fabric. 68 s. PhD-thesis, University of Kuopio, Finland.
- Kloos W.E, Tornabene T.G, Schleifer K.H, 1974. Isolation and Characterization of Micrococci From Human Skin, Including Two New Species: *Micrococcus lylae* and *Micrococcus kristinae*. Bacteriology Int J Syst Bacteriol 24:1.

- Kodjikian L, Richter T, Halberstad M, Beby F, Flueckiger F, Boehnke M & Garweg J.G, 2005: Toxic effects of indocyanine green, infracyanine green, and trypan blue on the human retinal pigmented epithelium. *Graefes Arch Clin Exp. Ophthalmol.* 243:9.
- Korkeala H, Lindström M, Heikinheimo A, Lundén J, Hänninen M-L & Fredriksson-Ahomaa M 2007. Bakteerit. Teoksessa: Korkeala H. *Elintarvikehygienia*. 35–105. 497 s. WSOY Oppimateriaalit Oy, Helsinki.
- Kozol R.A, Gillies C.M & Elgebaly S.A, 1988. Effect of Sodium Hypochloride (Dakin's Solution Cells of the Wound Module. *JAMA* 123:4.
- Kramer A, Guggenbichler P, Heldt P, Jünger Ladwig A, Thierbach H, Weber U & Daeschlein G, 2007. Hygienic Relevance and Risk Assessment of Antimicrobial-Impregnated Textiles. *Curr Probl Dermatol* 33:78-109.
- Kuittinen T. 2011. Suullinen tiedoksianto, 4.11.2011.
- Kurz A. 2012. RAL Quality Certification Mark 992 for Professional Textile Services. Moniste 1s. Hohestein Institute. Bönningheim, Germany.
- Kwintet Finland Oy. 2012. Työvaatteet-Kuvasto. Verkkodokumentti. Saatavilla: www.leijona-pro.fi/kuvasto.php?kat=1&ad=adwordssyky2011&utm_source=google&utm_medium=cpc&utm_campaign=kampanja, viitattu 4.6.2012.
- Lab M, 2006. LAB133 Spesification- Cetrimide-agar. Moniste 1 s. Lab M, Lancashire, UK.
- Lab M. 2012. LAB285 specification-Baird Parker agar. Moniste 2 s. Lab M, Lancashire, UK.
- Lakdawala N, Pham J, Sham M, Holton J, 2011. Effectiveness of Low-Temperature Domestic Laundry on the Decontamination of Healthcare Workers' Uniforms. *Infect Control Hosp Epidemiol* 32:11.
- Lancefield, R.C, 1933. A serological differentiation of human and other groups of hemolytic streptococci. *J. Exp. Med.* 57:571-595.
- Lappalainen J, 2003. Pesu- ja desinfiointijäämät ongelmana elintarviketeollisuudessa. *Kehittyvä Elintarvike*. 3:2001.
- Leskinen A, 2012. Suullinen tiedoksianto 13.3.2012.
- Maa- ja metsätalousministeriö, 2001. Lihahygieniä J14. Asetus 16/EEO/2001. Maa- ja metsätalousministeriö, Helsinki.
- Maa- ja metsätalousministeriö, 2003. Ruhojen pintanäytteet, pintojen puhtausnäytteet ja EHEC-näytteet teurastamossa ja leikkaamossa. Asetus MMMa 13/EEO/2003. Maa- ja metsätalousministeriö. Helsinki.
- McMeekin 2002. Predictive microbiology: towards the interface and beyond. *Int J of Food Microbiol* 73:2-3.

- Madigan M.T, Martenko J.M & Parker J. 2000. Brock Biology of Microorganisms. 9 Edition. 991 s. Prentice-Hall Inc. New Jersey, United States of America.
- Maffei F, Bucchini A, Rossi C, Poli P, Forti G.C & Hrelia P, 2005. Use of Comet test and micronucleus assay on human comet cells for in vitro of genotoxic induced by different drinking water disinfection protocols. Environ Mol Mutagen 46:2.
- Maitohygienialiitto 2012. Laatuhygienialuokitus–Maidon jakautuminen laatuhygienialuokkiin. Verkkodokumentti. Saatavilla:
www.maitohygienialiitto.fi/tilastot/laatuhygienialuokitus/36-maidon-jakaantuminen-luokkiin, Viitattu 1.6.2012.
- Matsumoto Y, Moro H, Hayakawa A & Ohashi M, 1995. Influence of free residual chlorine on cultured keratinocytes from normal skin and hypertrophic scars. J dermatol Sci 10:1-7.
- Maunula L & von Bonsdorff C-H, 2007. Virukset elintarvikkeissa Teoksessa: Korkeala H. Elintarvikehygieniä. 1. Painos. 17–22. 497 s. WSOY Oppimateriaalit O, Helsinki.
- Mentula S, 1998. *Streptococcus milleri* -ryhmä: Tunnistus lajitasolla ja esiintyvyys tietyissä infektioidissa. Pro gradu –tutkielma. 55 s. Soveltavan kemian ja mikrobiologian laitos, Helsingin yliopisto, Helsinki.
- Mohareem A.S, Charith Raj A.P & Janardhana G.R, 2007. Incidence of *Listeria* species in seafood product of Mysore India. Journal of Food Safety 27:4
- Moilanen P, 2002. Siitakkeen kasvatusprosessin optimointi. Opinnäytetyö 76 s. Hämeen Ammattikorkeakoulu, Hämeenlinna.
- Mossel D.A.A, Mengerink W.H.J & Scholts H.H, 1962. Use of a modified MacConkey agar medium for the selective growth and enumeration of Enterobacteriaceae. J. Bact. 84:2.
- Mäki M, Manninen E & Nyman K, 2005. Maitotilan pesuopas. 31 s. Maa- ja elintarviketaloudentutkimuskeskus, Jokioinen.
- Määttä H, 2011. Suullinen tiedoksianto. 11.10.2011.
- Määttä H, 2012. Suullinen tiedoksianto. 30.5.2012.
- Nevalainen J, 2012. Suullinen tiedoksianto. 16.1.2012.
- Nichols 1970, Bacteria in Laundered Fabrics. Am J Public Health Nations Health. 60:11.
- Niskanen T, Korhonen T, Siitonen A, Johansson T & Miettinen I, 2010. Ruokamyrkytykset Suomessa 2008. Eviran lulkaisu 14/2010, Helsinki.
- Niven R.M, Fletcher A.M, Pickering C.A.C, Fishwick D, Wartburton C.J, Simson J.C.G, Francis H & Oldham L.A, 1997. Chronic Bronchitis in textile worker. Thorax. 52:1.
- Nordic Source, 2012. Tehokkuutta hankinoihin. Verkkodokumentti. Saatavilla:
www.nordicsource.fi/index.html, Viitattu 19.5.2012.

- Noventia Oy, 2011. Tarjouspyyntö – Nordic source, Dokumentti 4 s. Noventia Oy, Espoo.
- Nugari M.P, Priori G.F, Maté D & Scala F, 2002. Fungisides for use textiles employed during the restoration of work of art. *Int Biodeterioration Biodegrad* 23:5.
- Oliphant J.W, Gordon D.A, Meis A & Parker R, 1949. Q fever in laundry workers, presumably transmitted from contaminated clothing. *Am. J. Hyg.*, 49:1.
- Osmundsen P.E, 1978. Contact dermatitis due to sodium hypochloride. *Contact Dermatitis* 4:3.
- Palosaari R, 2010. Hyväksytyt käytettävät kemikaalit -RABC-käsikirja -Liite 4. Moniste 1 s. Karjalan tekstiilipalvelu, Joensuu.
- Paziak-Domańska B, Bogusławska E, Więckowska-Szakiel M, Kotłowski R, Różalska B, Chmiela M, Kur J, Dąbrowski W & Rudnicka W, 1999. Evaluation of the API test, phosphatidylinositol C activity and PCR method in identification of *Listeria monocytogenes* in meat foods. *FEMS Microbiol Lett* 171:209-214.
- Pinto M, Burri S, Mena C, Almeida G, Carneiro L, Teixeira P & Gibbs P.A, 2001. *Listeria monocytogenes* Blood Agar for the recovery of *L.monocytogenes* from foods and environment samples. *Food Control* 12:511-514.
- Putsiini 2012. Putsiini-ammattiasusteet. Verkkodokumentti. Saatavilla: www.putsiini.fi/putsiinin-tuotteet, Viitattu 4.6.2012.
- Pöntinen P, 2011. Pesulasumutus: Salaperäinen tohtori Knorr löytyi. *Suomen Kuvalehti* 12.2.2011
- Rahkio M, Wirtanen G, Salo S, Syrakki S, Houhala K, Levo S & Niemi V-L, 2006. Pintahygienia opas. 5. Painos. 64 s. Elintarvike ja Terveys-lehti, Pori.
- Rasinmäki K, 2012 Suullinen tiedoksianto. 27.3.2012.
- Riedl R-M, 2009. Testing virucidal efficacy of disinfectant laundering processes. Verkkodokumentti. Päivitetty 13.5.2009. Saatavilla: www.innovations-report.com/html/reports/life_sciences/testing_virucidal_efficacy_disinfectant_laundering_132497.html, Viitattu 11.6.2012.
- Rurangirwa F.R, Teitzel C.A, Cui J, French D.M, McDonough P.L & Besser T, 2000. *Streptococcus didelphis* sp. nov., *Streptococcus* with marked catalase activity isolated from opossums (*Didelphis virginiana*) with suppurative dermatitis and liver fibrosis. *Int J Syst and Evol Microbil* 50:759-765.
- Rusanen J, 2008. Parempi tekstiilihygienia estäisi sairaalabakteerien leviämisen. Verkkodokumentti. Päivitetty 3.9.2008. Saatavilla: www.mtv3.fi/uutiset/kotimaa.shtml/parempi-tekstiilihygienia-estasi-sairaalabakteerin-leviamisen/2008/09/699460, Viitattu 29.5.2012.

- Shah P.C, Krajden S, Kane J & Summerbell R.C, 1998. Tinea corporis caused by *Microsporum canis*: report of a nosocomial outbreak Eur. J. Epidemiol. 4:1.
- Smith J.A, Neli K.R, Davidson C.G & Davidson R.W, 1987. Effect of Water Temperature on Bacterial Killing in Laundry. Infect. Control 8:5.
- Snellman Oy, 2012. Lihan vienti. Verkkodokumentti. Saatavilla:
www.snellman.fi/fi/perhetilat/lihan-vienti, Viitattu 19.4.2012.
- Standaert S.M, Hutcheson R.H & Schaffner W.A, 1994. Nosocomial transmission of salmonella gastroenteritis to laundry workers in a nursing home. Infect. Control Hosp. Epidemiol., 15:1.
- Standard Australia & Standard New Zealand, 2000. AS/NZS 4146:2000–Laundry Practice–Australian. Verkkodokumentti. Päivitetty 23.2.2000. Saatavilla:
www.saiglobal.com/PDFTemp/Previews/OSH/as/as4000/4100/4146.pdf, Viitattu 2.6.2012.
- Stokes W.S, 2001. EpiSkin™, EpiDerm™, and Rat Skin Transcutaneous Electrical Resistance (TER)- In Vitro Test Methods for Assessing the Dermal Corrosivity Potential of Chemicals, Verkkodokumentti. Päivitetty 24.6.2001. Saatavilla:
http://iccvam.niehs.nih.gov/docs/dermal_docs/epis_brd0801.pdf, Viitattu 16.8.2012.
- Svan A, 1954. The Use of a Bile-Aesculin Medium and of Maxted's Technique of Lancefield Grouping in the Identification of Enterococci (Group D Streptococci). J.clin.Path 7:160.
- Tamro Oyj, 2011. Kaliumhydroksidi-käyttöturvallisuustiedote. Verkkodokumentti. Moniste 5 s. Tamro Oyj, Vantaa.
- Tamro Oyj, 2011. Muurahaishappo-käyttöturvallisuustiedote. Verkkodokumentti. Moniste 6 s. Tamro Oyj, Vantaa.
- Teknokemian yhdistys, 2006. Pyykinpesuaineisen toiminta. Verkkodokumentti. Saatavilla:
www.teknokem.fi/pesuaktiiviset_aineet, Viitattu 11.6.2012.
- Tekstiilihuoltoliitto 2010. Tekstiilihuollon hygieniatoimikunta pesuloiden RABC. Tekstiilihuoltoliitto, Helsinki.
- Texcare forum Russia, 2012. Hohenstein Institute became a partner of Texcare Forum Russia 2012. Verkkodokumentti. Päivitetty 2.6.2012. Saatavilla:
www.texcare.messefrankfurt.ru/index.php?option=com_resource&controller=article&article=413&category_id=35&Itemid=191&lang=en, Viitattu 2.6.2012.
- The Moscow Times, 2011. New Russia Public Health Laws and Pharmaceutical and Medical Market – The Moscow Times. Verkkodokumentti. Päivitetty 22.11.2011. Saatavilla:
www.themoscowtimes.com/business/business_for_business/article/new-russian-public-health-laws-and-the-pharmaceutical-and-medical-market/448281.html, Viitattu 8.6.2012.

- Thermo Scientific, 2012. Oxoid Microbiology Product – Baird Parker Agar Base CM0275. Verkkodokumentti. Saatavilla: www.oxoid.com/UK/blue/prod_detail/prod_detail.asp?pr=CM0275&org=153&c=UK&lang=EN, Viitattu 26.5.2012.
- Thomas M.D, Giedinghagen D.H & Hoff G.L, 1987, An outbreak of scabies among employees in a hospital-associated commercial laundry. *Infect. Control*, 8:(427–429).
- TRLAA. 2012. Textile Rental & Laundry Association Australia LTD. Verkkodokumentti. Saatavilla: www.trlaa.com.au/, Viitattu 2.6.2012.
- TRSA100, 2012. TRSA100. Verkkodokumentti. Saatavilla: www.trsa.org, Viitattu 19.5.2012.
- Työterveyslaitos, 2011. OVA-ohje: Natriumhypokloriitti. Verkkodokumentti. Päivitetty 13.1.2011. Saatavilla: www.ttl.fi/ova/nathyklo.html, Viitattu 4.6.2012.
- Vartiainen P. 2012. Suullinen tiedoksianto 28.2.2012.
- van Dissel J.T, Stikkenbroeck J.J & van Furth R, 1993. Differences in the rate of intracellular killing of catalase-negative and catalase-positive *Listeria monocytogenes* by normal and interferon-gamma-activated macrophages. *Scand J Immunol*. 37:4.
- von Wright A, Honkalampi-Hämäläinen U, Kinnunen K, Kirjavainen R & Tolonen T, 2010. Elintarvike- ja ravitsemustoksikologian harjoitustyöt. Moniste 16s. Biotieteet – Ravitsemus- ja elintarvikebitekniikka. Itä-Suomen yliopisto, Kuopio.
- Vähä-Vahe 2010. Energian säästöä entsyymeillä. *Forte* (1):17-18.
- Waltman W.D, 2000. Methods for Cultural Isolation of Salmonella. Teoksessa: Wray C & Wray A, *Salmonella in domestic animal*. 465 s. CABI publishing, Oxon, UK.
- Wilcox M.H & Jones B.L, 1995. Enterococci and hospital laundry. *Lancet*, 345:594.
- Wirtanen G & Salo S, 2004. DairyNet – Hygiene control in Nordic dairies. VTT publication 545, Otamedia Oy, Espoo.
- Wirtanen G & Salo S, 2011, Survey of Surface Hygiene and Air Quality in Operating Theatre Environments. *Renhetsyhteistyö* 3:(9).
- Woodland R, Whitham D, O'Neil B & Otter S, 2010. Microbiological contamination of cubicle curtain in an out-patient podiatry clinic. *J Foot and Ankle Research* 3:26.